

Aus dem Zentrum für klinische Tiermedizin
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Arbeit angefertigt unter der Leitung von Prof. Dr. Wolfgang Klee

**Diagnostische Bedeutung des Quotienten
aus CK- und AST-Aktivität im Serum von Rindern**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Elisabeth Irmgard Jurgovsky
aus Aufhausen

München 2011

Gedruckt mit der Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan:	Univ.-Prof. Dr. Braun
Referent:	Univ.-Prof. Dr. Klee
Korreferent:	Univ.-Prof. Dr. Hirschberger

Tag der Promotion: 30. Juli 2011

meinem Bruder Johannes

INHALTSVERZEICHNIS

1. EINLEITUNG	1
2. LITERATURÜBERSICHT	3
2.1 Muskelerkrankungen des Rindes	3
2.2 Heterogenität der Skelettmuskulatur	5
2.3 Labordiagnostik von Muskelerkrankungen	9
2.3.1 Creatinkinase	9
2.3.1.1 <i>Die Isoenzyme der Creatinkinase</i>	9
2.3.1.2 <i>Funktion der Creatinkinase</i>	11
2.3.1.3 <i>Konzentration der Creatinkinase im Skelettmuskel</i>	13
2.3.1.4 <i>Referenzwerte für die CK im Serum von Rindern</i>	14
2.3.1.5 <i>Verhalten der CK bei Muskelschäden</i>	17
2.3.1.6 <i>Elimination der CK aus dem Blutplasma</i>	18
2.3.2 Aspartat-Aminotransferase	19
2.3.2.1 <i>Funktion der Aspartat-Aminotransferase</i>	19
2.3.2.2 <i>Organverteilung der Aspartat-Aminotransferase</i>	20
2.3.2.3 <i>Referenzwerte für die AST im Serum</i>	21
2.3.2.4 <i>Verhalten der AST bei Muskelschäden</i>	22
2.4 Die Aussagekraft der Serumenzyme CK und AST hinsichtlich der Prognose festliegender Kühe	26
2.5 Der Quotient der Konzentrationen von Creatinkinase und Aspartat-Aminotransferase in Blutserum und Muskelgewebe	28
3. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	33
3.1 Material und Methodik	33
3.1.1 Bestimmung der Konzentration von CK und AST im Muskelgewebe	33

3.1.1.1 Tiere	33
3.1.1.2 Muskeln	33
3.1.1.3 Durchführung der Muskelprobenentnahme	36
3.1.1.4 Aufbewahrung der Muskelproben	36
3.1.1.5 Verarbeitung der Muskelproben	36
3.1.1.6 Messung der Konzentrationen von CK und AST	37
3.1.1.7 Vergleich mit den Ergebnissen von FRAHM et al. (1978)	38
3.1.2 Retrospektive Datenauswertung zur Ermittlung der Halbwertszeiten von CK und AST	41
3.1.2.1 Tiere	41
3.1.2.2 Sammlung und Aufbereitung der Daten	41
3.1.3 Berechnungen mithilfe des CK/AST-Quotienten	43
3.1.3.1 Zeitpunkt des Traumas und initiale CK-Aktivität im Serum	43
3.1.3.2 Zerstörte Muskelmasse	47
3.1.4 Auswertung	49
3.1.4.1 Sammlung und Aufbereitung der Daten	49
3.1.4.2 Untersuchung auf Normalverteilung	49
3.1.4.3 Statistische Methoden	50
3.2 Ergebnisse	51
3.2.1 Muskelanalyse	51
3.2.1.1 Probenzahl	51
3.2.1.2 Überprüfung der Wiederholbarkeit der Enzymbestimmungen	51
3.2.1.3 Der CK-Gehalt in verschiedenen Skelettmuskeln beim Rind	52
3.2.1.4 Der AST-Gehalt in verschiedenen Skelettmuskeln beim Rind	56
3.2.1.5 Der CK/AST-Quotient in verschiedenen Skelettmuskeln beim Rind	59
3.2.1.6 Vergleich mit den Ergebnissen von FRAHM et al. (1978)	63
3.2.1.7 Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts vom Alter	64
3.2.1.8 Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts von der Rasse	68
3.2.2 Retrospektive Datenauswertung	77
3.2.2.1 Ermittlung der natürlichen Halbwertszeiten von CK und AST	77
3.2.2.2 Weitere Erkenntnisse aus der Datenauswertung	80
3.2.3 Berechnungen mithilfe des CK/AST-Quotienten	81

4. DISKUSSION	91
4.1 Bestimmung der CK- und AST-Gehalte im Skelettmuskel	91
4.2 Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts vom Alter	96
4.3 Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts von der Rasse	96
4.4 Der Quotient aus CK- und AST-Aktivität	97
4.5 Ermittlung der natürlichen Halbwertszeiten von CK und AST	101
5. ZUSAMMENFASSUNG	106
6. SUMMARY	108
7. LITERATURVERZEICHNIS	110
8. ANHANG	122
9. DANKSAGUNG	138

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ADP	Adenosindiphosphat
AST	Aspartat-Aminotransferase
ATP	Adenosintriphosphat
CrP	Creatinphosphat
CK	Creatinkinase
Da	Dalton
EC	Enzyme Commission
FF - Fasern	fast twitch - Fasern
FR - Fasern	fast twitch fatiguable - Fasern
g	Erdbeschleunigung
G6PDH	Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase
HK	Hexokinase
IFCC	International Federation of Clinical Chemistry
Klinik für Wiederkäuer	Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung, Oberschleißheim
m	Median
MDH	Malat-Dehydrogenase
mU	Milliunits
NADP ⁺ /NADPH ₂	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
PAST	Palaeontological Statistics
PASW	Predictive Analysis Software
s	Standardabweichung
S - Fasern	slow twitch - Fasern
U/min	Umdrehungen pro Minute
vgl.	vergleiche
x	arithmetischer Mittelwert

1. Einleitung

Einfach „nur“ Milchfieber oder etwa doch ein Trauma?

Diese Frage stellt sich dem Tierarzt, der zu einer festliegenden Kuh gerufen wird, regelmäßig. Bei Kühen, welche aufgrund einer peripartalen Hypocalcämie festliegen, sind Muskelverletzungen die am häufigsten diagnostizierten Begleiterkrankungen (GELFERT et al., 2007). Schon eine subklinische Hypocalcämie kann nämlich bewirken, dass die Tiere in ihren Bewegungen unsicher werden. Die Gefahr von traumatischen Schädigungen, vor allem der großen Muskelpakete der Hintergliedmaßen durch Ausrutschen auf glattem Boden oder plötzliches Niederstürzen, ist somit deutlich erhöht.

Es erleiden aber auch viele Kühe, die nach der Kalbung einen ausgeprägten Calciummangel aufweisen, Muskelnekrosen allein durch den Druck des Eigengewichts infolge längeren Festliegens. Wird das Tier dabei nicht regelmäßig gewendet, können bald ernsthafte Schädigungen von Muskeln und Nerven eintreten. Ernsthaft deshalb, weil die Therapie ausgedehnter Muskelschäden oft schwierig bis unmöglich ist und es im schlimmsten Fall zum Totalverlust der Kuh kommen kann.

In der Praxis werden derzeit üblicherweise die Aktivitäten der sogenannten Muskelenzyme Creatinkinase und Aspartat-Aminotransferase im Serum bestimmt, um eine Muskelverletzung auszuschließen. Ist vor allem die sehr muskelspezifische Creatinkinase aber im hohen vier- bis fünfstelligen Bereich, so gilt die Diagnose als gesichert.

Dennoch wäre es hilfreich, außerdem zu wissen, wie lange das Muskeltrauma bereits zurückliegt, um das Ausmaß der primären und der sekundär durch das Festliegen entstandenen Muskelschäden abschätzen und nicht zuletzt eine gewisse prognostische Einschätzung abgeben zu können.

Dieser Gedanke bringt den Quotienten aus CK und AST ins Spiel, der sich aufgrund der unterschiedlich raschen Elimination der beiden Enzyme aus dem Blutplasma ebenfalls in seinem Verlauf charakteristisch verhalten müsste. Mithilfe des bei einmaliger Enzymwertmessung bestimmten CK/AST-Quotienten sollte es möglich sein zu berechnen, wie viel Zeit seit Eintritt des Muskeltraumas bereits verstrichen ist, wenn die Höhe des Quotienten im Skelettmuskel, also das Verhältnis in dem die

beiden Enzyme bei einer Muskelzellschädigung ausgeschüttet werden, bekannt ist. Weiterhin ließe sich berechnen, wie hoch die maximale Aktivität von CK bzw. AST im Serum initial war und damit auf die Größe der zugrundegegangenen Muskelmasse rückschließen.

Ziel dieser Arbeit ist es daher, die Enzymgehalte von CK und AST und deren Quotient im Skelettmuskel durch Untersuchung verschiedener Muskeln von Kühen zu bestimmen. Auf dieser Grundlage basierend sollen dann durch Auswertung der Daten von Klinikpatienten mit erhöhten Muskelwerten die natürlichen Halbwertszeiten von CK bzw. AST ermittelt werden.

Im Anschluss daran soll geprüft werden, ob die oben beschriebenen Berechnungen möglich sind und der CK/AST-Quotient somit ein hilfreicher Parameter in der Diagnostik von Muskelerkrankungen bei Rindern sein könnte.

2. Literaturübersicht

2.1 Muskelerkrankungen des Rindes

Die Einteilung der beim Rind vorkommenden Muskelerkrankungen gelingt am besten nach ätiologischen Kriterien. Eine gute Übersicht dazu geben McGAVIN und ZACHERY (2009).

Am weitaus häufigsten treten bei Rindern degenerative Muskelerkrankungen auf, die aufgrund einer Ischämie des Gewebes zu Muskelfasernekrosen führen. Fast jede Kuh leidet während oder nach der Kalbung an einem mehr oder weniger ausgeprägten Calciummangel. Führt dieser zum Festliegen, so entsteht eine Kompression der Muskulatur von außen durch das Eigengewicht des Tieres. Da Rinder häufig in Brustlage festliegen, sind davon besonders die Brustmuskulatur und die Muskeln der unter dem Körper liegenden Hintergliedmaße betroffen (McGAVIN und ZACHARY, 2009). Ischämische Muskelfasernekrosen können dabei aufgrund einer Verminderung des Blutflusses entstehen, wenn große Arterien komprimiert werden, oder aufgrund eines Reperfusionsschadens durch massiven Calciumeinstrom in die Muskelzellen, wenn sich das Tier bewegt. Auch eine Erhöhung des intramuskulären Drucks kann im Sinne eines sogenannten Kompartmentsyndroms Nekrosen zur Folge haben: Muskelzellen neigen in der Frühphase einer Schädigung nämlich im Allgemeinen dazu, anzuschwellen. Gleichzeitig ist die Ausdehnungsmöglichkeit des Muskels aber aufgrund der umhüllenden Faszien begrenzt, was zu Drucknekrosen führen kann. Vor allem die Muskeln im Bereich der kräftigen Oberschenkelfaszie sind davon betroffen (McGAVIN und ZACHARY, 2009).

Ein ischämischer Zustand der Muskulatur kann beim Rind aber natürlich nicht nur im Zusammenhang mit dem Festliegen, sondern auch aufgrund einer generalisierten Vaskulitis entstehen, wie sie zum Beispiel bei der Blauzungenerkrankung vorkommt (McGAVIN und ZACHARY, 2009).

Wie auch immer die Ischämie aber entstanden ist, allgemein gilt: Ihre Dauer bestimmt den Schweregrad der Nekrose und damit die Erfolgsaussichten der Regeneration (McGAVIN und ZACHARY, 2009).

Was die Häufigkeit des Auftretens angeht, stehen bei Kühen nach den ischämisch bedingten die traumatischen Muskelschäden an zweiter Stelle (McGAVIN und ZACHARY, 2009). Auch sie ereignen sich oft im Zeitraum um die Kalbung. Schon ein subklinischer Calciummangel führt nämlich zu Unsicherheit in der Bewegung und erhöht somit die Gefahr von Fehltritten oder Ausrutschen auf glattem Boden. Die Folge sind Muskelfaserrisse oder Rupturen ganzer Muskelpakete, bevorzugt an den Hintergliedmaßen. In manchen Fällen lässt dann sogar die Haltung, in der das Tier aufgefunden wird, einen gewissen Rückschluss auf die Art der geschädigten Muskulatur zu. So liegen zum Beispiel Kühe, welche sich durch Ausgrätschen einen Adduktorenriss zugezogen haben, typischerweise mit schräg nach vorne gestreckten Hintergliedmaßen, fest (STEINER, 2002).

Gerade bei Nutztieren haben aber auch ernährungsbedingte Myopathien eine große Bedeutung. Am häufigsten wird bei Rindern ein Selen-, etwas seltener ein Vitamin-E-Mangel gesehen (SCHOLZ und STÖBER, 2002; McGAVIN und ZACHARY, 2009). Da beide Stoffe als Antioxidantien gelten, manifestiert sich ihr Mangel vor allem an der Skelettmuskulatur, welche wegen des hohen Sauerstoffbedarfs sehr anfällig für oxidative Schäden ist (McGAVIN und ZACHARY, 2009). Das resultierende Krankheitsbild wird aufgrund der helleren Farbe der Muskulatur als Weißmuskelkrankheit oder auch als Myodystrophie bezeichnet (KOLB, 1989).

Wesentlich seltener als die bereits genannten Ursachen für Muskelerkrankungen bei Rindern treten parasitär bedingte Muskelschäden, wie die Sarcosporidiose oder die Zystizerkose, toxisch bedingte, zum Beispiel eine Vergiftung mit Ionophoren, oder angeborene Muskelerkrankungen auf (McGAVIN und ZACHARY, 2009).

2.2 Heterogenität der Skelettmuskulatur

Die zelluläre Einheit der Skelettmuskulatur ist die Muskelfaser. Bereits zum Zeitpunkt der Geburt ist die endgültige Zahl an Muskelfasern in den einzelnen Muskeln weitgehend erreicht. Im Laufe des Wachstums nehmen nur noch Länge und Durchmesser der Muskelfasern zu (KOLB, 1989). Die meisten Muskeln setzen sich aus etwa 20.000 – 100.000 Muskelfasern zusammen. Jede einzelne Muskelfaser kann eine Länge von bis zu 35 cm erreichen, ihr Durchmesser schwankt zwischen 5 bis 150 µm (KOLB, 1989).

Histochemische Untersuchungen haben ergeben, dass sich nahezu jeder Muskel aus verschiedenen Typen von Muskelfasern zusammensetzt (BROOKE und KAISER, 1970; KOLB, 1989; GORZA, 1990; KIRCHOFER et al., 2002; VALBERG, 2008) und die Fasern im Zentrum meist dicker sind als im Randbereich (KOLB, 1989).

Da die Anzahl und Art der unterschiedlichen Muskelfasertypen schon Gegenstand zahlreicher Untersuchungen war (BROOKE und KAISER, 1970; GORZA, 1990; KIRCHOFER et al., 2002), existieren je nach Autor verschiedene, gebräuchliche Einteilungsschemata und Bezeichnungen, die im Folgenden kurz beschrieben werden sollen.

Nach histochemischen und funktionellen Kriterien werden schon seit geraumer Zeit rote, weiße und intermediäre Muskeln unterschieden (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987). Die Bezeichnung lässt sich auf den geringeren Myoglobingehalt weißer Muskelfasern zurückführen, wodurch Muskeln mit einem hohen Anteil dieser Fasern makroskopisch blasser erscheinen als rote Muskeln (VALBERG, 2008).

Rote Muskelfasern sind dünner als weiße, enthalten relativ weniger Myofibrillen aber mehr Sarkoplasma, welches bis zu 40 % der Muskelmasse betragen kann (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987). Wie bereits erwähnt, haben sie eine höhere Konzentration von Myoglobin und sind außerdem stärker kapillarisiert (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987). Da sie wesentlich mehr und größere

Mitochondrien mit mehr Cristae besitzen, haben sie ein deutlich höheres oxidatives Potential als weiße Muskelfasern (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987). In roten Muskelfasern wird die für die Kontraktion benötigte Energie also bevorzugt durch oxidative Phosphorylierung von Fettsäuren bereitgestellt (ADHIHETTY et al., 2003). Ein weiteres Charakteristikum roter Muskelfasern ist, dass sie sich langsamer kontrahieren als weiße Fasern, aber nicht oder kaum ermüdbar sind (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987; VALBERG, 2008). Sie werden deshalb auch als „slow twitch“- oder „S“-Fasern bezeichnet (VALBERG, 2008). Vor allem Haltemuskulatur, Atem- und Kehlkopfmuskulatur besteht zum überwiegenden Teil aus S-Muskelfasern (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987).

Weißer Muskelfasern kontrahieren sich dagegen sehr schnell und entwickeln dabei mehr Kraft, ermüden aber auch leichter, weshalb sie auch „fast twitch fatiguable“- oder „FF“-Fasern genannt werden (VALBERG, 2008). In weißen Muskelfasern erfolgt die Energiegewinnung aufgrund des geringeren Gehalts an Mitochondrien vor allem durch anaerobe Glykolyse (ADHIHETTY et al., 2003). Als bevorzugte Energiequelle dienen Glykogen und Glucose. Außerdem weisen sie auch eine höhere Creatinphosphatkonzentration auf als rote Fasern (WYSS und KADDURAH-DAOUK, 2000; ADHIHETTY et al., 2003).

Die als intermediär, „fast twitch, fatigue resistant“- oder „FR“- bezeichneten Fasern nehmen in histochemischer und funktioneller Hinsicht eine Zwischenstellung zwischen roten und weißen Muskelfasern ein (VALBERG, 2008). Sie kontrahieren sich schnell, sind aber wenig ermüdbar (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987; VALBERG, 2008). Da sie sowohl mit oxidativen, als auch mit glykolytischen Enzymen ausgestattet sind, können sie aerobe wie auch anaerobe Wege zur Energiegewinnung nutzen (ADHIHETTY et al., 2003; RUBENSTEIN und KELLY, 2004). Als Energiequelle dienen ihnen dabei vor allem Fettsäuren (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987).

Auch BROOKE und KAISER (1970) untersuchten Muskelfasern mithilfe histochemischer Methoden. Sie differenzierten zwei Typen anhand des Verhaltens bei der Myosin-ATPase-Färbungsreaktion:

Typ I hat einen niedrigen Myosin-ATPase-Gehalt und entspricht den oben beschriebenen S-Muskelfasern. Fasern des Typ II dagegen haben einen hohen Gehalt an Myosin-ATPase und lassen sich aufgrund der unterschiedlichen Labilität der Myosin-ATPase in Säure und Lauge wiederum in drei Subtypen, IIA, IIB und IIC, gliedern. Typ IIB entspricht dabei den FF-Fasern, Typ IIA den FR-Fasern. Typ IIC kommt vor allem bei Neonaten vor und wird bei ausgewachsenen Individuen nur selten gefunden. BROOKE und KAISER (1970) vermuten, dass dieser neonatale Muskelfasertyp eventuell noch die Fähigkeit besitzen könnte, sich in Typ I oder in Typ II Fasern umzuwandeln.

Bei Untersuchungen von GORZA (1990) stellte sich heraus, dass Muskelfasern verschiedene Isoformen von Myosin besitzen. Anhand von Antikörpern, die jeweils gegen eine bestimmte Myosin Isoform gerichtet sind, lassen sich eine neonatale und eine slow twitch Isoform, bezeichnet als Typ 1, und fünf verschiedene fast twitch Isoformen, bezeichnet als Typ 2, unterscheiden (RUBENSTEIN und KELLY, 2004). Typ 2a, 2b und 2x sind mit dem Typ 1 die am häufigsten im Skelettmuskel vorkommende Myosin Isoformen, wogegen Typ 2m Fasern vor allem in den Kaumuskeln von Karnivoren und Typ 2eom Fasern vor allem in den extraorbitalen Muskeln gefunden wurden.

Wie bereits erwähnt, kann sich ein Muskel aus verschiedenen Muskelfasertypen zusammensetzen. Im Zentrum findet man häufig Fasern mit größerem Durchmesser als in der Peripherie des Muskelbauchs (KOLB, 1989). Aufgrund der Faserzusammensetzung kann auf die Funktion des Muskels geschlossen werden (MORENO-SANCHEZ et al., 2008).

Einige der im Rahmen dieser Arbeit beprobten Muskeln wurden bereits von anderen Autoren hinsichtlich ihrer Muskelfaseranteile untersucht.

KELLER (1974) analysierte mehrere Muskeln von Rindern in Hinblick auf ihren Gehalt an oxidativen und glykolytischen Enzymen, sowie auf ihre

Muskelfaserzusammensetzung. Er teilte die Muskeln dazu in fünf Gruppen in Abhängigkeit von ihrer Funktion ein. Die Untersuchungen ergaben, dass diejenigen Muskeln, die in die Gruppe der „teilweise Kau-, teilweise Atemmuskeln“ eingeordnet wurden, wie zum Beispiel der *M. sternomandibularis*, eine gewisse oxidative wie auch glykolytische Enzymaktivität aufweisen und somit den intermediären Muskeln zuzurechnen sind.

In der gleichen Arbeit wurde auch die CK-Aktivität in den verschiedenen Muskeln gemessen. Da diese proportional ist zum Creatinphosphatverbrauch bei einer speziellen Kontraktion, vermutet KELLER (1974), dass sie auch für jeden einzelnen Fasertyp charakteristisch sein könnte. Unterstützt wird dies durch die Befunde von ROSALKI (1965), der unterschiedliche Isoenzyme der Creatinkinase in roten und weißen Muskeln nachgewiesen hat. KELLER (1974) betont aber weiterhin, dass als Beweis für seine Hypothese quantitative Studien an einzelnen Muskelfasern nötig seien.

BURKE (1975) untersuchte unter anderem den *M. gastrocnemius medius* der Katze. Er fand darin 42 % „FF“-Fasern und einen überwiegenden Anteil glykolytischer Enzyme. Diese Ergebnisse lassen darauf schließen, dass dieser Muskel nach der Klassifizierung von KIRCHOFER et al. (2002) ein weißer Muskel ist – zumindest bei der Katze.

KIRCHOFER et al. (2002) nahmen Proben aus dem Zentrum von jeweils 38 Muskeln von vier Rindern. Mithilfe histochemischer Färbungen differenzierten sie verschiedene Muskelfasertypen und teilten die untersuchten Muskeln auf dieser Grundlage in drei Gruppen ein: Alle Muskeln mit einem Anteil von über 40 % roten Muskelfasern galten als rote Muskeln, alle mit über 40 % weißen Muskelfasern als weiße Muskeln. Alle Muskeln mit anderer Zusammensetzung wurden als intermediäre Muskeln eingeordnet. Die *Mm. adductores*, der *M. biceps femoris* und der *M. semimembranosus* wurden auf dieser Grundlage zum Beispiel als weiße Muskeln klassifiziert, der *M. vastus lateralis*, ein Anteil des *M. quadriceps femoris* als intermediärer Muskel mit eher glykolytischer Aktivität.

2.3 Labordiagnostik von Muskelerkrankungen

2.3.1 Creatinkinase

2.3.1.1 Die Isoenzyme der Creatinkinase

Die Creatinkinase (EC 2.7.3.2) gehört zur Familie der Phosphotransferasen und hat ein Molekulargewicht von ca. 80.000 Da (DAWSON und FINE, 1967; STEIN, 2005). Aufgrund ihrer homo- oder heterodimeren Struktur, die aus den Untereinheiten CK-M („muscle“), CK-B („brain“) oder CK-Mi („mitochondrium“) aufgebaut sein kann, lassen sich grundsätzlich 4 Isoenzyme unterscheiden (DAWSON und FINE, 1967; DAWSON et al., 1968; WYSS et al., 1992; WYSS und KADDURAH-DAOUK, 2000):

CK-1	BB	v. a. in Gehirn, Plazenta, Lunge
CK-2	MB	v. a. im Herzmuskel
CK-3	MM	v. a. im Skelettmuskel
CK-4	MiMi	mitochondrielle Creatinkinase

Ontogenetische Studien an der Ratte haben ergeben, dass alle untersuchten Organe während der frühen Fetalentwicklung ausschließlich CK-BB enthalten. Im Skelettmuskel verschwindet diese dann langsam im Laufe des Wachstums und wird zunächst durch CK-MB, dann durch CK-MM ersetzt (EPPENBERGER et al., 1964).

In Muskelzellen von adulten Individuen ist die Creatinkinase zu 90 % im Zytoplasma und zu 10 % in den Mitochondrien lokalisiert (WYSS et al., 1992). Lange Zeit wurde angenommen, dass die cytosolischen Creatinkinasen als „lösliche“ Enzyme im gesamten Cytoplasma verteilt vorliegen. WALLIMANN et al. (1984) konnten durch *in situ* Immunfluoreszenz-Lokalisationsstudien aber zeigen, dass bedeutende Mengen der cytosolischen Isoenzyme an bestimmten subzellulären Orten gelegen sind. So ist zum Beispiel im Muskel ein physiologisch bedeutender Anteil der CK-MM mit der M-Bande der Myofibrillen assoziiert (WALLIMANN et al., 1984).

GALITZER und OEHME (1985) fanden bei der elektrophoretischen Auftrennung von CK-Isoenzymen in verschiedenen Geweben von Kühen sogar 6 Banden.

Regelmäßig traten zwei Hauptbanden auf, wahrscheinlich ähnlich der menschlichen CK-BB und CK-MB, in fast allen Geweben zeigte sich ebenso die dritte Bande der CK-MM, welche das Hauptisoenzym sowohl im Plasma als auch in Skelett- und Herzmuskulatur darstellt (BRAUN et al., 1995). Die drei anderen Banden waren schwächer und sehr unterschiedlich in den Geweben verteilt. GALITZER und OEHME (1985) vermuten in ihnen verschiedene Formen der mitochondriellen CK oder komplexartig an Immunglobuline oder Lipoproteine gebundene CK.

Aktuellere Untersuchungen haben bestätigt, dass tatsächlich zwei Isoenzyme der mitochondriellen CK existieren (HAAS et al., 1989; HAAS und STRAUSS, 1990; KLEIN et al., 1991). Die „sarkomere“ MiCK kommt nur in der Skelettmuskulatur und im Herzen vor, wogegen das andere Isoenzym der MiCK in vielen verschiedenen Geweben wie Gehirn, Uterus, Nieren und Aorta geringfügig exprimiert und deshalb als „ubiquitäre“ Form bezeichnet wird (HAAS und STRAUSS, 1990; KLEIN et al., 1991). Im Gegensatz zu den cytosolischen CK-Isoenzymen formen die mitochondriellen Creatinkinasen Homodimere oder Homooktamere und können daher ein Molekulargewicht von 75 – 91 kDa bzw. 306 – 380 kDa aufweisen (WYSS et al., 1992).

In der Humanmedizin wird vor allem die Bestimmung der CK-MB bzw. ihres Anteils an der Gesamt-CK zur Herzinfarktdiagnostik verwendet (HAMDAN et al., 2006). PEEK et al. (2008) untersuchten die Aussagekraft von CK-MB, herzspezifischem Troponin I (cTnI) und Troponin T (cTnT) und der CK-Gesamtaktivität hinsichtlich Herzmuskelschäden durch experimentell induzierte Endotoxämie bei 10 Schwarzbunkälbern. Dabei konnte das Isoenzym CK-MB lediglich in 5 von 95 Blutproben entdeckt werden. Die Autoren folgern daher, dass die CK-MB einen wenig sensitiven Biomarker für Myokardschäden beim Kalb darstellt. Von den untersuchten Parametern konnten nur für das cTnI und die CK-Gesamtaktivität statistisch signifikant höhere Werte bei den Kälbern mit Endotoxämie im Vergleich zur Kontrollgruppe gemessen werden.

Auch nach BRAUN et al. (1995) haben Isoenzymbestimmungen bisher keinen praktischen Nutzen beim Rind.

2.3.1.2 Funktion der Creatinkinase

Jeder Organismus braucht Energie, um lebensfähig zu sein. Die Creatinkinase spielt eine wichtige Rolle im Energiehaushalt von Zellen, die einen intermittierend hohen Energiebedarf haben, wie zum Beispiel Muskelzellen. Sie besitzt zwei aktive Zentren mit je einer reaktiven Schwefelwasserstoffgruppe und katalysiert die Phosphorylierung von Creatin zu Creatinphosphat (WYSS und KADDURAH-DAOUK, 2000; BERG et al., 2003a):



Diese Reaktion ist reversibel, verläuft aber bevorzugt nach rechts, wodurch ein intrazellulärer Creatinphosphatpool entsteht. Dieser stellt ein Reservoir von energiereichem Phosphat dar, welches in Perioden mit hohem oder schwankendem Energiebedarf der Zelle sehr rasch für die Regeneration von ATP bereitgestellt werden kann.

Die Menge an gespeichertem ATP im Muskel reicht gerade aus, um die Muskelkontraktion für weniger als eine Sekunde aufrecht zu erhalten (BERG et al., 2003a). Das Creatinphosphatreservoir stellt also in den ersten vier Sekunden einer starken körperlichen Anstrengung die Hauptquelle für energiereiches Phosphat dar (BERG et al., 2003a). Danach muss ATP durch den Metabolismus erzeugt werden.

In schnell kontrahierenden (fast twitch) Skelettmuskelfasern dient der Creatinphosphatpool der sofortigen Bereitstellung von ATP bei plötzlicher starker Erhöhung der Muskelaktivität. In langsam kontrahierenden (slow twitch) Skelettmuskelfasern, im Herzmuskel und in anderen Geweben dagegen ist eine kontinuierliche „Anlieferung“ von energiereichem Phosphat an Orte mit ATP-Verbrauch nötig. WYSS et al. (1992) beschreiben daher zwei mögliche Funktionen des Creatinkinase/Creatinphosphat-Systems in Geweben, welche CK enthalten. In

Muskeln, die sich sehr stark aber kurz kontrahieren (fast twitch), muss in den entsprechenden Muskelfasern ständig ein großes Creatinphosphat-Reservoir für die sofortige Regeneration von ATP im Falle plötzlicher, intensiver Arbeit zur Verfügung stehen. Aufgrund der hohen cytosolischen CK-Aktivität in diesen Muskelfasern, befindet sich die von der CK katalysierte Reaktion im Gleichgewicht, so dass die intrazellulären Konzentrationen von ATP und ADP nahezu konstant bleiben. In diesem Fall übt das CK/CrP-System also eine Art Pufferfunktion für die Konzentrationen von ATP und vor allem ADP aus (WYSS et al., 1992).

Im anderen Fall kann das CK/CrP-System aber auch die Funktion eines Transportshuttles übernehmen, welches Orte der ATP-Synthese (Mitochondrien) mit Orten des ATP-Verbrauchs (Myofilamente der Sarkomere) verbindet (WYSS et al., 1992). Die mitochondrielle Creatinkinase ist entlang der äußeren Oberfläche der inneren Membran der Mitochondrien lokalisiert, vor allem an sogenannten „contact sites“, engen Berührungsstellen von innerer und äußerer Mitochondrienmembran (ROJO et al., 1991). Dort synthetisiert sie Creatinphosphat unter Verwendung des aus der oxidativen Phosphorylierung hervorgegangenen ATP. Das CrP diffundiert ins Cytoplasma und dient dort den überwiegend an den M-Banden der Myofibrillen lokalisierten cytosolischen Creatinkinasen (WALLIMANN et al., 1984) zur erneuten Phosphorylierung von ADP. Das entstehende ATP steht somit der Muskelkontraktion zur Verfügung. WYSS et al. (1992) betonen allerdings, dass die beiden beschriebenen Modelle, die Puffer- und die Transportfunktion der CK, jeweils Extreme darstellen und die tatsächliche Situation in einer Zelle sehr wahrscheinlich dazwischen liegt. Festhalten lässt sich aber, dass in „weißen“, glykolytischen Muskelfasern eher die Pufferfunktion der CK von Bedeutung ist, wogegen in „roten“, oxidativen Muskelfasern mehr die Transportfunktion überwiegt (WYSS und KADDURAH-DAOUK, 2000). Je höher nämlich die Oxidationskapazität eines Muskels ist, umso höher ist auch die Konzentration an mitochondrieller CK (WYSS und KADDURAH-DAOUK, 2000), welche schließlich nur bei dem Transport-Modell der CK, nicht aber beim Puffer-Modell eine Rolle spielt. WYSS und KADDURAH-DAOUK (2000) halten sogar ein flexibles „Umschalten“ des CK/CrP-Systems im Muskel zwischen Puffer- und Transport-Typ für möglich. Ausgelöst werden kann dieser *switch* zum Beispiel durch ausdauerndes Training bzw. chronische elektrische Stimulation von Muskeln.

2.3.1.3 Konzentration der Creatinkinase im Skelettmuskel

Einige Autoren untersuchten verschiedene Gewebe des Rindes und fanden die höchsten CK-Gehalte stets im Skelettmuskel, gefolgt vom Herzmuskel an zweiter Stelle. Da die CK-BB aus dem Gehirn nicht in das Blut übertritt, ist die Creatinkinase ein sehr muskel- und herzmuskelspezifisches Enzym (FRAHM et al., 1977).

In Tabelle 2.3.1 sind die durchschnittlichen CK-Gehalte im Skelettmuskel aufgeführt. Die Temperaturangaben bei der Methodik beziehen sich auf die Empfehlungen der *International Federation of Clinical Chemistry* (IFCC). Früher wurde zur Durchführung der IFCC-Methode eine Temperatur von 25°C oder 30°C empfohlen, heute erfolgt sie bei 37°C (STEIN, 2005). Bei allen drei Temperaturen wird im pH-Optimum der Creatinkinase gearbeitet, die gemessene CK-Gesamtaktivität ist bei der neuen 37°C-IFCC-Methode allerdings gegenüber dem bei 25°C gemessenen Wert um den Faktor 2,4 erhöht (STEIN, 2005).

Tab. 2.3.1: CK-Gehalt in verschiedenen Skelettmuskeln von Rindern nach Literaturangaben

x = arithmetischer Mittelwert, s = Standardabweichung

Autor	Tiere	Muskel	CK-Gehalt / g Feuchtgewicht	Statistik	Methodik
KELLER (1971)	7 Kühe	M. pterygoideus	24,86 IU/g	x	Biochemica-Test, Boehringer, keine Temperaturangabe
FRAHM et al. (1977)	7 Bullen	M. sternomandibularis	1440 ± 830 IU/g	x ± s	Auto-Analyzer II, Technicon, 37°C
FRAHM et al. (1978)	11 Kühe	M. sternomandibularis	3140 ± 780 IU/g	x ± s	Auto-Analyzer II, Technicon, 37°C
GALITZER und OEHME (1985)	10 Kühe	Lendenmuskulatur	165.330 IU/g	x	Helena Laboratories Test Kit, keine Temperaturangabe
LEFEBVRE et al. (1994)	6 Kühe	Skelettmuskulatur	2860 ± 769 IU/g	x ± s	IFCC-Methode, 30°C

2.3.1.4 Referenzwerte für die CK im Serum von Rindern

Auch bei gesunden Rindern ist stets eine gewisse CK-Aktivität im Serum nachweisbar, da auch intakte Zellen „Lecks“ haben, über die Enzyme zu jedem Zeitpunkt in geringen Mengen austreten können (BRAUN et al., 2008). Beim Rind beträgt die austretende CK-Menge im Durchschnitt 0,7 IU/kg Muskel/Stunde (BRAUN et al., 2008), was zu den in Tabelle 2.3.2 aufgeführten Referenzbereichen führt.

Diese Enzymfreisetzung aus intakten Zellen schwankt im Tagesverlauf, aber auch von Individuum zu Individuum sehr stark. Sie wird außerdem beeinflusst durch

körperliche Aktivität, Alter, Geschlecht, Ernährung (v.a. Verfettung), Medikamente und evtl. Tumorerkrankungen (ANDERSON, 1975; BLACKMORE und ELTON, 1975; HEFFRON et al., 1976; TARRANT und MCVEIGH, 1979).

Tab. 2.3.2: Referenzbereiche für CK im Serum von Rindern nach Literaturangaben

x = arithmetischer Mittelwert, m = Median, s = Standardabweichung

Autor	Tiere	Referenzwert/-bereich	Statistik	Methodik
KELLER et al. (1971)	18 Kühe	0,67 ± 0 – 2,43 IU/l	m ± 2s	Biochemica-Test, Boehringer, keine Temperatur- angabe
ANDERSON et al. (1976)	27 Kälber 14 Färsen	51 ± 19 IU/l 42 ± 18 IU/l	x ± s x ± s	Calbiochem Test Kit, Vitatron AKES, 30°C
FRAHM et al. (1977)	9 Bullen 65 Kühe	299 ± 60,1 IU/l 177 ± 115 IU/l	x ± s x ± s	Auto-Analyzer II, Technicon, 37°C
FRAHM et al. (1978)	11 Kühe 2150 Kühe	161,67 ± 31,35 IU/l 144,53 ± 63,22 IU/l	x ± s x ± s	Auto-Analyzer II, Technicon, 37°C
BAUMGARTNER und SKALICKY (1979)	Kühe 13 Färsen	8,7 - 39,3 IU/l 26,1 ± 12,0 IU/l	x ± s	keine Angabe
ROSSOW und BOLDUAN (1994)	Kühe	< 40 IU/l	keine Angabe	keine Angabe
BRAUN et al. (1995)	Rinder	< 100 IU/l	keine Angabe	IFCC-Methode, 37°C
KRAFT (1999)	Rinder	< 250 IU/l	keine Angabe	keine Angabe
BAUMGARTNER (2002)	Rind Kalb	< 60 IU/l < 50 IU/l	keine Angabe	keine Angabe
PÖHLER (2004)	150 Kälber (5 – 14 Tage alt)	< 236,23 IU/l	95% Perzentil	CK NAC, photometri- scher UV-Test, 37°C

2.3.1.5 Verhalten der CK bei Muskelschäden

Kommt es zu einer Zerstörung von Muskelzellen, zum Beispiel durch Traumen wie Prellungen, Muskelrupturen, chirurgische Eingriffe, intramuskuläre Injektionen oder zu Nekrosen, zum Beispiel durch längeres Festliegen, so wird die Creatinkinase sehr rasch aus den zugrundegehenden Zellen freigesetzt (BRAUN et al., 2008). Auch bei ungewohnter körperlicher Belastung, Intoxikation zum Beispiel mit CCl₄ oder bei Vitamin E-, Selen- oder Kupfermangel, ist häufig ein deutlicher Anstieg der CK im Serum zu verzeichnen. Das Enzym gelangt dabei zunächst in den perizellulären Raum, wird dann in Lymphgefäße aufgenommen und letztlich ins Blutgefäßsystem transportiert (BRAUN et al., 2008). Dies erklärt die zeitliche Verzögerung zwischen Muskelzellschaden und CK-Anstieg im Serum, welche bei körperlicher Aktivität aufgrund stärkerer Lymphdrainage geringer ist (BRAUN et al., 2008).

Der Grad des Enzymanstiegs bei Muskelfasernekrose ist proportional zur geschädigten Gewebemasse (VOLFINGER, 1994).

KELLER et al. (1971) untersuchten das Verhalten von Serumenzymen nach experimentell gesetzten Muskelschäden beim Rind. Nach Laparotomie in der linken Flanke erreichte die CK bereits innerhalb von 2 Stunden den Gipfel ihrer Aktivität (Anstieg auf das 10fache), blieb ca. 24 Stunden lang auf diesem Niveau und sank anschließend wieder auf den Ausgangswert ab (vgl. Abb. 2.3.1).

Auch nach einem am stehenden Tier durchgeführten Kaiserschnitt reagierte die CK sehr rasch und empfindlich mit einem Anstieg auf das 5fache des Ausgangswerts nach 2 Stunden und einem maximalen Anstieg auf das 10fache nach 24 Stunden. Nach dem 1. Tag nach der Operation fiel die CK-Aktivität wieder rapide auf den Basalwert ab (vgl. Abb. 2.3.2).

Auch BOSTEDT (1974) und COX et al. (1982) fanden die höchsten CK-Werte 24 - 48 Stunden nach der Muskelschädigung.

BOSTEDT (1973) vermutet als Ursache für den CK-Anstieg bei Gebärpause eine Instabilität der Muskelzellmembran aufgrund einer Verschiebung der extrazellulären

Ca- und P-Konzentrationen oder auch eine Muskelschädigung durch fortwährende Aufstehversuche des Patienten.

Die Creatinkinase hat zwar eine große Bedeutung vor allem bei der Unterscheidung von Muskelverletzungen und alleinigen Mineralstoffimbilanzen bei postpartal festliegenden Kühen, die Höhe der Enzymaktivität erlaubt nach RÖTTKER (1983) jedoch keine sichere Aussage über den Schweregrad der Muskelschädigung.

Wurde eine bestimmte Menge Creatinkinase ins Blut freigesetzt, so bleibt ihre Konzentration dort zunächst gleich; es findet im Gegensatz zur AST kein Austausch mit Blutzellen statt (BRAUN et al., 2008). Da Erythrozyten praktisch frei sind von CK, können Proben auch durch Hämolyse nicht verfälscht werden (WEISS, 1976).

2.3.1.6 Elimination der CK aus dem Blutplasma

Im Plasma wird die CK-M Untereinheit durch die zirkulierende Carboxypeptidase N minimal hydrolysiert. Dadurch bleibt die katalytische Aktivität der Creatinkinase zwar uneingeschränkt erhalten, es entstehen allerdings 3 Isoformen des MM-Isoenzyms (MM1, MM2 und MM3) und 2 Isoformen des MB-Isoenzyms (BRAUN et al., 2008). Die Elimination der CK aus dem Plasma erfolgt vor allem durch Aufnahme in Kupfer-Sternzellen der Leber und Abbau in Lysosomen (BRAUN et al., 2008). Die Eliminationszeit ist bei Tieren mit geringerer Körpermasse, wie zum Beispiel Kälber, kürzer als bei solchen mit größerer Körpermasse (SCHUHMACHER et al., 1991) und der Abbau in der Leber kann bei infektiösen Erkrankungen und Immunsuppression reduziert sein (BRAUN et al., 2008).

Aus Tabelle 2.3.3 sind die durch verschiedene Autoren ermittelten Halbwertszeiten der Creatinkinase im Plasma ersichtlich.

Zunächst wurden dazu, je nach Autor, Proben aus Muskelgewebe, Herz oder Leber genommen und zu sogenannten "Enzymextrakten" verarbeitet. Die dabei angewendeten Methoden unterschieden sich je nach Studie etwas. Nachdem die gewonnenen Organhomogenate den Versuchstieren dann intravenös verabreicht worden waren, wurden in bestimmten Zeitintervallen Blutproben genommen und die

CK-Aktivität im Plasma gemessen. Aus diesen Werten konnte dann im Folgenden die Halbwertszeit der CK errechnet werden.

Die weiter unten aufgeführten Halbwertszeiten der AST wurden auf gleiche Weise ermittelt.

Tab. 2.3.3: Halbwertszeit der CK im Plasma von Rindern nach Literaturangaben

x = arithmetischer Mittelwert, s = Standardabweichung

Autor	Tiere, Extrakt	HWZ in Stunden	Statistik	Methodik
ANDERSON et al. (1976)	3 Kälber, M. biceps femoris	1,93 - 3,73 ± 0,035 – 0,186	x ± s	Calbiochem Test Kit, Vitatron AKES, 30°C
BOGIN und SOMMER (1976)	1 Rind, Herz	4,0	keine Angabe	keine Angabe
SCHUHMACHER et al. (1991)	6 Kälber, Zwerchfell 9 Färsen, Zwerchfell	3,46 ± 0,65 8,27 ± 3,27	x ± s x ± s	kinetischer UV- Test NAC, 37°C
LEFEBVRE et al. (1994)	6 Kühe	8,67 ± 1,82	x ± s	IFCC- Methode, 30°C

2.3.2 Aspartat-Aminotransferase

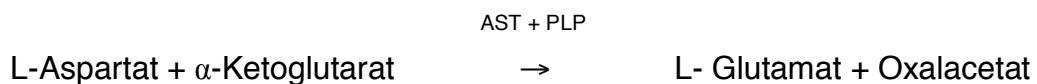
2.3.2.1 Funktion der Aspartat-Aminotransferase

Die Aspartat-Aminotransferase (EC 2.6.1.1), früher auch als Glutamat-Oxalacetat-Transaminase (GOT) bezeichnet, ist ein ubiquitäres Enzym des Aminosäurestoffwechsels, welches in Herz- und Skelettmuskel, Leber, aber auch Niere, Pankreas, Milz, Lunge und anderen Geweben vorkommt. Sie ist intrazellulär zu etwa 30 % im Zytoplasma gelöst (Molekulargewicht ca. 93.000 D) und zu etwa

70 % an mitochondriale Strukturen (Molekulargewicht ca. 91.000 D) gebunden (THOMAS, 2005), wodurch sich entsprechend zwei Isoformen, die zytoplasmatische c-AST und die mitochondrielle m-AST unterscheiden lassen.

Die Struktur der AST stellt ein Dimer aus zwei homologen Untereinheiten dar, welche jeweils ein Pyridoxalphosphat-Molekül als Cofaktor in ihrem aktiven Zentrum enthalten.

Durch die Übertragung einer Aminogruppe, also eine Transaminierung, katalysiert die Aspartat-Aminotransferase die Synthese von Aspartat aber auch Phenylalanin, Tyrosin und anderen Stoffen (BERG et al., 2003b):



2.3.2.2 Organverteilung der Aspartat-Aminotransferase

Der AST-Gehalt verschiedener Organe und Gewebe wurde bereits von mehreren Autoren untersucht. FRAHM et al. (1977) und BOGIN und SOMMER (1976) fanden dabei den höchsten Enzymgehalt in der Leber, bei FRAHM et al. (1977) gefolgt von Herz, Skelettmuskel, Niere, Milz, Uterus und Euter. Insgesamt hatten Kühe dabei stets eine deutlich höhere Enzymaktivität als Bullen. Bei KELLER (1971) dagegen zeigte sich die höchste Aktivität im Skelettmuskel und geringere Aktivitäten in Myokard, Leber, Plazentomen, Nierenrinde und Großhirnrinde.

Zusammenfassend lässt sich also festhalten, dass die AST keineswegs ein organspezifisches, sondern vielmehr ein ubiquitäres Enzym ist (KELLER, 1971). Dennoch steigt ihre Aktivität im Serum bei Muskelerkrankungen mit Zellnekrose oder lediglich Membranschädigung an, weshalb die AST besonders bei gleichzeitiger Interpretation der CK-Aktivität als Indikator hierfür verwendet werden kann. Bei Tierarten, wie zum Beispiel dem Rind, bei denen die Alanin-Aminotransferase nicht zur Diagnose von Lebererkrankungen herangezogen werden kann, dient die AST in Kombination mit anderen Enzymwerten als gewisser Ersatz (KRAFT, 1999).

In Tabelle 2.3.4 sind die von verschiedenen Autoren ermittelten AST-Gehalte im Skelettmuskel aufgeführt.

Tab. 2.3.4: AST-Gehalt in verschiedenen Skelettmuskeln nach Literaturangaben

x = arithmetischer Mittelwert, s = Standardabweichung

Autor	Tiere	Muskel	AST-Gehalt/g Feuchtgewicht	Statistik	Methodik
KELLER (1971)	7 Kühe	M. pterygoideus	20,58 IU/g	x	Biochemica-Test, Boehringer, keine Temperaturangabe
BOGIN und SOMMER (1976)	4 Kühe	Skelettmuskel	70,13 IU/g	x	Biochemica-Test, Boehringer, keine Temperaturangabe
FRAHM et al. (1977)	7 Bullen	M. sterno- mandibularis	34 ± 18 IU/g	x ± s	Auto-Analyzer II, Technicon, 37°C
FRAHM et al. (1978)	11 Kühe	M. sterno- mandibularis	107 ± 31 IU/g	x ± s	Auto-Analyzer II, Technicon, 37°C

2.3 Referenzwerte für die AST im Serum

Wie oben bereits für die CK ausgeführt, lässt sich auch bei der AST stets eine gewisse Normalaktivität im Serum nachweisen, die unterschiedlich starken individuellen Schwankungen unterliegen kann. Die von verschiedenen Autoren genannten Referenzwerte für Rinder sind in Tabelle 2.3.5 aufgelistet.

Im Gegensatz zur CK haben Erythrozyten auch einen gewissen Gehalt an AST, weshalb gemessene Serumwerte durch eventuell auftretende Hämolyse stark verändert werden können (WEISS, 1976).

Tab. 2.3.5: Referenzbereiche für AST im Serum von Rindern nach Literaturangaben

x = arithmetischer Mittelwert, s = Standardabweichung

Autor	Tiere	Referenzwert / -bereich	Statistik	Methodik
KELLER (1971)	18 Kühe	28,16 ± 11,60 IU/l	x ± 2s	Biochemica- Test, Boehringer, keine Temperatur- angabe
FRAHM et al. (1977)	9 Bullen 65 Kühe	118 ± 27,6 IU/l 100 ± 30,3 IU/l	x ± s x ± s	Auto-Analyzer II, Technicon, 37°C
FRAHM et al. (1978)	2150 Kühe 11 Kühe	97,87 ± 30,71 IU/l 114,92 ± 19,81 IU/l	x ± s x ± s	Auto-Analyzer II, Technicon 37°C
BAUMGARTNER und SKALICKY (1979)	Kühe 13 Färsen	20,6 - 42,4 IU/l 31,6 ± 12,2 IU/l	x ± s	keine Angabe
ROSSOW und BOLDUAN (1994)	Rinder	13,2 - 30 IU/l	keine Angabe	keine Angabe
KRAFT (1999)	Rinder	< 80 IU/l	keine Angabe	keine Angabe
BAUMGARTNER (2002)	Rind Kalb	< 30 IU/l < 40 IU/l	keine Angabe	keine Angabe
PÖHLER (2004)	150 Kälber (5 – 14 Tage alt)	< 80,08 IU/l	95 % Perzentil	AST optimiert, UV-Test, 37°C
FÜRLL (2005)	Rinder	80 IU/l	keine Angabe	keine Angabe

2.3.2.4 Verhalten der AST bei Muskelschäden

Im Falle einer Muskelerkrankung oder eines Traumas mit einhergehender Muskelzellnekrose wird die AST vermehrt in den perizellulären Raum freigesetzt und gelangt genau wie die Creatinkinase über Lymphgefäße ins Blutgefäßsystem (BRAUN et al., 2008).

KELLER et al. (1971) stellten bei ihren Untersuchungen zu Muskelschäden beim Rind einen fast kontinuierlichen Aktivitätsanstieg der AST nach experimentell durchgeführter Probelaaparotomie fest. Nach einem Anstieg auf das Dreifache des Ausgangswerts erreichte die AST am 4. Tag nach der Operation ihren Höhepunkt und fiel danach gleichmäßig bis zum 7. Tag wieder auf den Basalwert von etwa 30 U/l ab. Nach einem Kaiserschnitt war der Maximalwert, diesmal ein Aktivitätsanstieg um das Fünffache, schon am 1. Tag post OP erreicht und der kontinuierliche AST-Abfall bis zum Ausgangswert dauerte bis zum 10. Tag.

Das Verhalten von CK und AST nach Laparotomie und nach Kaiserschnitt ist in den Abbildungen 2.3.1 und 2.3.2 dargestellt. Bei Abbildung 2.3.1 ist zu beachten, dass die maximale CK-Aktivität in dieser Studie zwar deutlich geringer ist, als diejenige der AST, der relative Aktivitätsanstieg der CK (auf das 10-fache) aber deutlich größer ist als bei der AST (KELLER et al., 1971). Dies ist auch in Abbildung 2.3.2 erkennbar, in der die relativen Aktivitätsanstiege von CK und AST dargestellt sind.

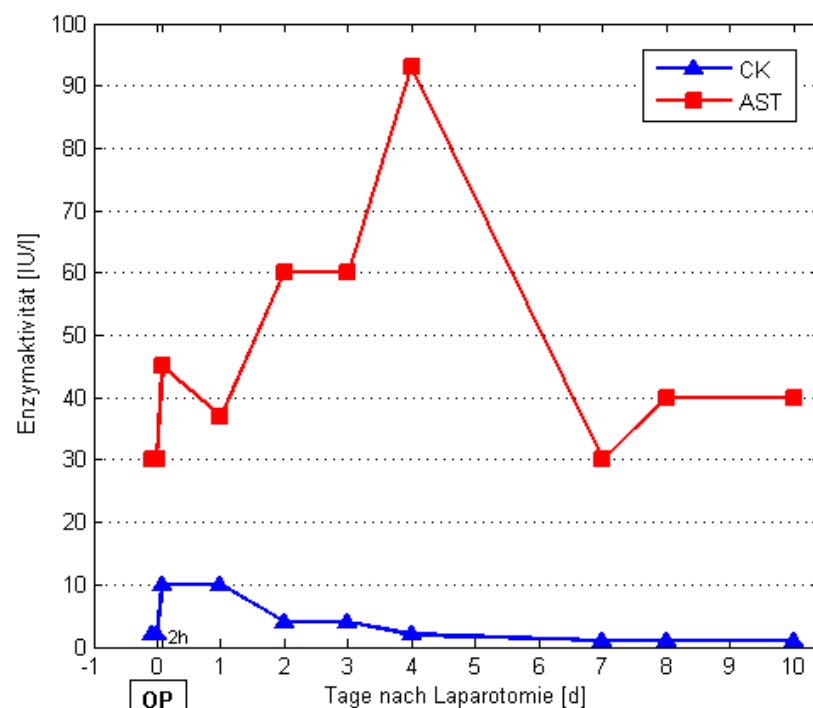


Abb. 2.3.1: Das Verhalten von CK und AST nach Laparotomie modifiziert nach KELLER et al. (1971)

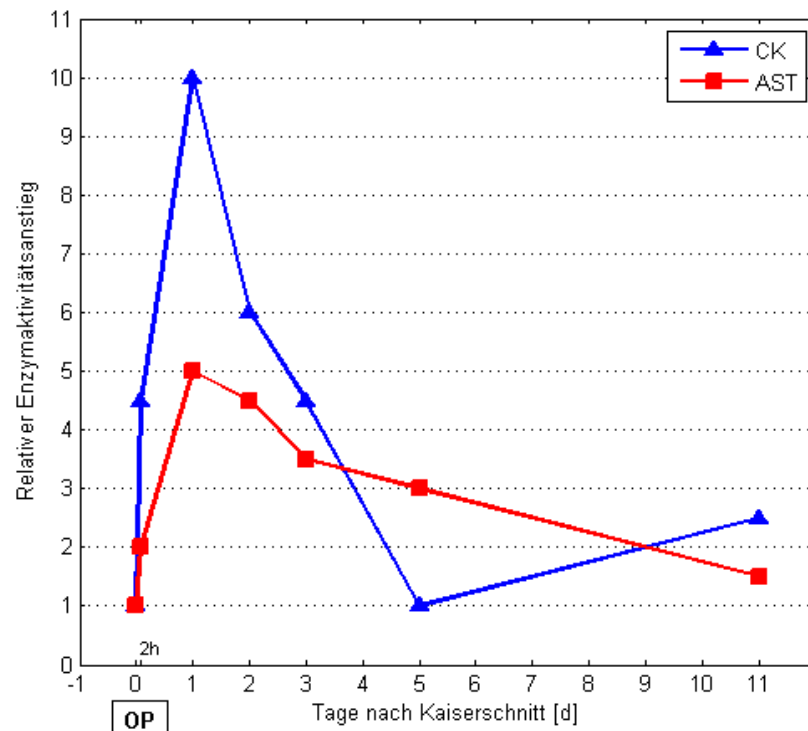


Abb. 2.3.2: Das Verhalten von CK und AST nach Kaiserschnitt modifiziert nach KELLER et al. (1971)

Interessant ist auch, dass die AST bei kleineren Muskeltraumen, wie zum Beispiel Hernienoperationen, Klauenamputationen oder Tenotomien kaum reagierte - ganz im Gegensatz zur CK (KELLER et al., 1971).

Die Aspartat-Aminotransferase lässt sich also durchaus als Indikator für Muskelschädigungen verwenden, die Creatinkinase reagiert allerdings wesentlich rascher und empfindlicher. KELLER et al. (1971) sehen die Ursache für das weniger vorhersehbare Verhalten der AST bei Muskelerkrankungen in dem Mangel an Organspezifität. Somit kommt es beim Patienten zum Enzymübertritt aus verschiedenen geschädigten Organen ins Serum und damit zu einer erhöhten Serumaktivität. Anders als bei der CK korreliert die Höhe der AST im Serum aber einigermaßen mit dem Ausmaß der Muskelläsion (DOTTA und ROBUTTI, 1972).

Tabelle 2.3.6 enthält eine Zusammenfassung der von verschiedenen Autoren ermittelten Eliminationshalbwertszeiten der AST.

Tab. 2.3.6: Halbwertszeit der AST im Plasma von Rindern nach Literaturangaben

x = arithmetischer Mittelwert, s = Standardabweichung

Autor	Tiere, Extrakt	HWZ in Stunden	Statistik	Methodik
ANDERSON et al. (1976)	3 Kälber, M. biceps femoris	6,69 - 9,04 0,300 - 0,559	x ± s	Boehringer Test Kit, Vitatron AKES, 30°C
BOGIN und SOMMER (1976)	1 Rind, Herz	7,0	keine Angabe	Boehringer Test Kit, keine Temperatur- angabe
ANDERSON et al. (1981)	1 Rind, Leber	2,8	keine Angabe	Boehringer Test Kit, Vitatron AKES, 30°C
SCHUHMACHER et al. (1991)	6 Kälber, Muskel Leber 9 Färsen, Muskel Leber	9,74 ± 1,38 14,99 ± 0,81 33,48 ± 3,74 16,71 ± 0,58	x ± s x ± s x ± s x ± s	kinetischer UV- Test, 37°C

2.4 Die Aussagekraft der Serumenzyme CK und AST hinsichtlich der Prognose festliegender Kühe

Nachdem Untersuchungen von BOSTEDT (1973) bereits ergeben hatten, dass die Bestimmung des Serumenzymgehalts bei festliegenden Kühen Hinweise für die Prognose erbringen kann, widmeten sich FRERKING et al. (1984) der Überprüfung dieser These. In ihrer Studie wurden unter anderem die Aktivitäten von CK und AST im Serum von 202 um den Kalbetermin festliegenden schwarzbunten Kühen bestimmt und mit dem klinischen Verlauf der Tiere in Beziehung gesetzt. Dabei zeigte sich, dass bei denjenigen Kühen mit Muskelschäden, welche später der Verwertung zugeführt werden mussten, statistisch signifikant höhere AST- und CK-Aktivitäten gemessen worden waren als bei den geheilten Tieren (680 IU/l und 217 IU/l für die AST bzw. 9996 IU/l und 2441 IU/l für die CK). FRERKING et al. (1984) folgern daraus eine prognostische Bedeutung der AST für festliegende Kühe. Die CK-Aktivität erlaubt nach FRERKING et al. (1984) dagegen keine sichere Aussage über das Schicksal der Tiere, da sie auch in der Gruppe der Geheilten recht hoch war.

Auch CLARK et al. (1984) stellten eine Aussagekraft der Serumenzyme CK und AST hinsichtlich der Prognose sogenannter "Downer Cows" fest. Sie untersuchten Serumproben von 196 festliegenden Kühen. Als kritischen Wert in den ersten sieben Tagen des Festliegens fanden sie eine AST-Aktivität von 650 IU/l. Nur eine Kuh mit einer AST-Aktivität über 650 IU/l überlebte in dieser Studie. Der kritische Wert für die CK-Aktivität, bei dem sich, wenn er überschritten war, kein Tier erholte, war von der Dauer des Festliegens abhängig (Tab. 2.4.1).

Tab. 2.4.1: Kritischer Wert für CK (CLARK et al., 1984)

Dauer des Festliegens [Tage]	< 1	1-2	3-4	5-7	> 8
kritischer CK-Wert [IU/l] (bei 25°C)	12.000	14.000	7.000	4.000	1.800

In einer weiteren, umfassenderen Studie untersuchten CLARK et al. (1987) die Bedeutung von verschiedenen Serumenzymen, Elektrolyten und anderen Serumbestandteilen, sowie von hämatologischen Parametern in Hinblick auf die Prognose festliegender Kühe. 433 Serumproben von Patienten wurden dazu analysiert und die Ergebnisse mit dem klinischen Verlauf der Tiere verglichen. CLARK et al. (1987) unterschieden dabei 3 Gruppen: Kühe, welche sich erholten (39 %), Kühe, welche starben (30 %) und Kühe, welche euthanasiert wurden (31 %). Es wurde versucht, für jeden Parameter einen kritischen Wert zu ermitteln. War dieser überschritten, so lag die Wahrscheinlichkeit, dass die Kuh überlebte bei unter fünf Prozent.

Für die AST-Aktivität in den ersten sieben Tagen des Festliegens ergab sich ein kritischer Wert von 890 IU/l bzw. eine 7,4-fache Erhöhung des oberen Referenzbereichs. Der kritische Wert für die CK-Aktivität war wie schon in der ersten Studie je nach Dauer des Festliegens unterschiedlich (Tab. 2.4.2).

Tab. 2.4.2: Kritischer Wert für CK (CLARK et al., 1987)

Dauer des Festliegens [Tage]	0,5	1	2	3	4	5	6	7
kritischer CK-Wert [IU/l] (bei 30°C)	12.200	18.600	16.300	14.000	10.900	8.500	6.200	3.900

Auch SHPIGEL et al. (2003) beschäftigten sich mit der prognostischen Aussagekraft der Serumenzyme CK, AST und LDH (Laktat-Dehydrogenase) bei festliegenden Kühen. Sie nahmen bei 262 Kühen vom Beginn des Festliegens an täglich Serumproben und bestimmten darin die Aktivitäten der drei Enzyme. Die statistische Analyse zeigte, dass die kritischen Werte für die AST vor allem an Tag 2 (128 IU/l) und Tag 3 (189 IU/l) ein Misslingen der Behandlung besser vorhersagen konnten als die kritischen Werte für die CK (2330 IU/l) und LDH (2225 IU/L). SHPIGEL et al. (2003) empfehlen trotzdem, dass in die Beurteilung festliegender Kühe die Aktivitäten aller drei Muskelenzyme, sowie andere Blutparameter und die klinischen Befunde einbezogen werden sollten.

Ab dem vierten Tag des Festliegens sind nach SHPIGEL et al. (2003) aufgrund der sehr kurzen Halbwertszeit der CK nur noch die Aktivitäten von AST und LDH nützlich zur Vorhersage einer Heilung.

GELFERT et al. (2007) untersuchten verschiedene Begleiterkrankungen bei aufgrund von Hypocalcämie festliegenden Kühen hinsichtlich ihres Einflusses auf den Behandlungserfolg. Insgesamt wurden dazu 770 Kühe in fünf Tierarztpraxen innerhalb von 6 Stunden nach Beginn des Festliegens klinisch und labordiagnostisch untersucht. Die neben einer Hypocalcämie am häufigsten diagnostizierten Erkrankungen waren Muskelverletzungen (6,9 – 22,7 %) und Ketose (2,5 – 28,0 %).

Kühe, welche nicht geheilt werden konnten, hatten zum Zeitpunkt der ersten Behandlung (500 ml Calciuminfusion + evtl. 15 ml Dexamethason, je nach Praxisstandard) signifikant höhere CK- und AST-Aktivitäten als die geheilten Kühe. Insgesamt betrug die Heilungsrate bei hypocalcämischen Kühen ohne Muskelschaden 100 %, bei Kühen mit einer CK-Aktivität zum Zeitpunkt der ersten Behandlung von über 1000 IU/l betrug sie nur noch 71,4 %.

Als kritische Werte wurden je nach Praxis eine AST-Aktivität von 65 – 144 IU/l und eine CK-Aktivität von 241 – 2128 IU/l ermittelt. Die daraus berechneten sehr niedrigen *positive predictive values* beider Enzyme für das Misslingen der Behandlung und die dagegen sehr hohen *negative predictive values* führen die Autoren auf die insgesamt sehr hohe Heilungsrate zurück. GELFERT et al. (2007) sprechen den o. g. kritischen Werten für CK und AST daher nur eine mäßige Spezifität zu und kommen zu dem Schluss, dass eine labordiagnostische Untersuchung zum Zeitpunkt der ersten Behandlung einer festliegenden Kuh keine hilfreiche Information hinsichtlich der Prognose des Tieres sondern lediglich hinsichtlich eventuell vorhandener Begleiterkrankungen liefern kann.

2.5 Der Quotient der Konzentrationen von Creatinkinase und Aspartat-Aminotransferase in Blutserum und Muskelgewebe

Aufgrund der Unterschiede in der Verteilung von Enzymen zwischen verschiedenen Organen, Organteilen oder Zellkompartimenten und ihrer abweichenden Eliminationskinetik entstand schon früh die Idee, Quotienten aus bestimmten Enzymen diagnostisch zu nutzen. Laborblätter sind oft sehr umfangreich und wegen der zahlreichen gemessenen Parameter nicht immer auf den ersten Blick durchschaubar; Enzym-Quotienten können die Interpretation hier vereinfachen, indem sie Daten kombinieren und dadurch reduzieren (SCHMIDT et al., 1980). Zu bedenken ist allerdings, dass Quotienten immer weniger eindeutig sind als die ursprünglichen Messwerte und sich die diagnostische Aussage dadurch im ungünstigsten Fall verändern kann (SCHMIDT et al., 1980).

In der Humanmedizin etablierten SZASZ und BUSCH (1972) als Erste den CK/AST-Quotienten - deshalb auch Szasz-ratio genannt - zur Herzinfarktdiagnostik. Da Herzmuskel weniger CK und mehr AST als Skelettmuskel enthält und die Enzyme bei einem Herzmuskelzellschaden wie zum Beispiel einem akuten Myokardinfarkt in genau diesem Verhältnis freigesetzt werden, ist der Quotient aus den im Serum gemessenen Enzymaktivitäten niedrig (GARCIA-WEBB et al., 1985; DUFOUR, 1988). Bei einem Skelettmuskelschaden dagegen würde CK/AST einen hohen Wert ergeben (GARCIA-WEBB et al., 1985). Da die Aktivitäten beider Enzyme in jedem noch so kleinen Labor gemessen werden können, war ihr Quotient lange Zeit das Mittel der Wahl zur ersten Einschätzung von Patienten mit Verdacht auf Herzinfarkt. Heute gilt allerdings eine Erhöhung des Isoenzym CK-MB oder des herzspezifischen Troponin T als Goldstandard (GARCIA-WEBB et al., 1985; DUFOUR, 1988; SWAIN et al., 1993; THOMAS, 2005).

Auch in der Diagnostik von Muskelerkrankungen beim Schwein hat der CK/AST-Quotient gewisse Bedeutung erlangt. Nach BICKHARDT (2004) liegt die CK beim Schwein in ähnlichen Konzentrationen in weißen und roten Muskelfasern vor, die AST hingegen weist in roten Muskelfasern höhere Konzentrationen auf als in weißen

Muskelfasern. Der CK/AST-Quotient kann also genutzt werden, um Muskelerkrankungen, wie zum Beispiel die bei bestimmten Schweinerassen gehäuft auftretende Belastungsmiopathie, von Muskelverletzungen und Lebererkrankungen zu unterscheiden. Bei der Belastungsmiopathie sind durch exzessive anaerobe Glykolyse vor allem weiße Muskelfasern geschädigt. Daher weist ein hoher CK/AST-Quotient von über 50 (meist liegt er sogar bei über 100) auf eine Belastungsmiopathie hin, wogegen ein CK/AST-Quotient von unter 50 eher für eine Schädigung roter Muskelfasern und damit für eine Muskelverletzung spricht (BICKHARDT, 2004). Weiterhin ist ein sehr niedriger CK/AST-Quotient von unter 20 sehr wahrscheinlich auf eine Leberzelldegeneration zurückzuführen (BICKHARDT, 2004).

Studien zu Muskelerkrankungen beim Pferd lieferten Hinweise darauf, dass der CK/AST-Quotient zur Ermittlung des Zeitpunktes des Muskelschadens hilfreich sein kann (GLITZ, 1997). Sein diagnostischer Einsatz ist in der Pferdemedizin aber weit weniger verbreitet als beim Schwein.

Obwohl die Frage nach der Bedeutung des CK/AST-Quotienten in der Diagnostik von Muskelerkrankungen beim Rind naheliegend ist, existieren dazu kaum Studien in der gesichteten Literatur. Die vorliegende Arbeit soll dazu beitragen, diese Wissenslücke zu schließen. Da die Halbwertszeiten von CK und AST im Serum beim Rind unterschiedlich sind, verhält sich auch der CK/AST-Quotient in seinem Verlauf nach einem Muskeltrauma charakteristisch. Wenn man das Verhältnis aus CK- und AST-Gehalt im Skelettmuskel kennt und annimmt, dass die beiden Enzyme infolge eines Muskelzellschadens genau in diesem Verhältnis ins Blutplasma übertreten, so sollte es möglich sein, mithilfe einer einmaligen Messung der Aktivitäten von CK und AST im Serum und Kenntnis der biologischen Halbwertszeiten beider Enzyme die Zeitspanne zu berechnen, die seit Eintritt des Traumas mindestens verstrichen sein muss. Desweiteren könnte auch ermittelt werden, wie hoch die maximale Aktivität der beiden Enzyme im Serum direkt nach dem Trauma war und wieviel Muskelmasse dabei zerstört wurde.

Für die Richtigkeit dieser Berechnungen müssen allerdings folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

1. Der CK/AST-Quotient muss in allen Muskeln gleich sein.

Da in den meisten Fällen von Muskelverletzungen bei Kühen nicht bekannt ist, welcher Muskel geschädigt ist, oder mehrere Muskelpakete betroffen sind, kann nur unter der Annahme, dass die Muskelenzyme aus allen Muskeln im gleichen Verhältnis freigesetzt werden, auf den Zeitpunkt des Traumas rückgerechnet werden.

2. Alle betroffenen Muskelzellen müssen (annähernd) zum selben Zeitpunkt zugrundegegangen sein.

Es muss vorausgesetzt werden, dass keine weitere Muskelzellzerstörung mit fortschreitender Freisetzung von CK und AST mehr stattfindet.

3. Die maximale Aktivität von CK und von AST im Serum muss zum gleichen Zeitpunkt vorliegen.

Nur wenn die Aktivität von CK und von AST gleichzeitig ihren Höhepunkt erreicht, kann davon ausgegangen werden, dass der CK/AST-Quotient im Serum zu diesem Zeitpunkt dem Verhältnis der Enzymgehalte im Muskel entspricht.

4. Es dürfen keine anderen Gründe außer einer Muskelzellzerstörung für die Erhöhung der CK- und der AST-Aktivität vorliegen.

Im Speziellen muss also vor allem eine Leber- oder Herzerkrankung des betroffenen Tieres ausgeschlossen werden.

Im ersten Teil dieser Arbeit werden sieben verschiedene Skelettmuskeln von Kühen auf ihren CK- und AST-Gehalt hin untersucht und aus den gemessenen Werten der CK/AST-Quotient in jedem Muskel berechnet. Der zweite Teil beinhaltet die retrospektive Auswertung der Daten von Kühen mit erhöhten Muskelwerten, mit dem Ziel, die Halbwertszeiten von CK und AST zu ermitteln.

3. Eigene Untersuchungen

3.1 Material und Methodik

3.1.1 Bestimmung der Konzentration von CK und AST im Muskelgewebe

3.1.1.1 Tiere

Als Probanden für die Entnahme von Muskelproben wurden ausschließlich weibliche Rinder ab einem Alter von 18 Monaten ausgewählt. Sie waren alle Patienten der *Klinik für Wiederkäuer mit Ambulanz und Bestandsbetreuung* in Oberschleißheim und wurden dort euthanasiert. Die Erkrankungen der für diese Arbeit ausgewählten Tiere, die dann letztendlich zur Euthanasie führten, waren sehr vielfältig, lediglich die Diagnose eines Muskeltraumas durfte nicht gestellt worden sein.

Insgesamt wurden 60 Tiere beprobt.

3.1.1.2 Muskeln

Im Rahmen dieser Arbeit sollten möglichst diejenigen großen Muskelpakete beprobt werden, die beim Rind erfahrungsgemäß im Zusammenhang mit einem Trauma am häufigsten betroffen sind. Desweiteren wurde darauf geachtet, Muskeln auszuwählen, welche auch am nicht enthäuteten Rinderkörper gut und sicher zu identifizieren sind.

In unterschiedlicher Anzahl wurden somit folgende sieben Muskeln beprobt: *Musculi adductores*, *Musculus biceps femoris*, *Musculus quadriceps femoris*, *Musculus semimembranosus*, *Musculus gastrocnemius*, *Musculus extensor carpi ulnaris*, *Musculus sternomandibularis*.

Die *Musculi adductores* bestehen beim Rind aus einer Gruppe von Muskeln mit lockerer Gewebetextur, welche eher flächig, an der Innenseite des Oberschenkels

ventral am Becken entspringen und zum Medialrand des Femurs ziehen (LIEBICH et al., 2005b). Am leichtesten gelang der Zugang zu dieser Muskelgruppe, indem das jeweilige Hinterbein des in Seitenlage befindlichen Tierkörpers mithilfe eines Krans so weit nach oben gezogen wurde, bis die Gliedmaßenachse nahezu senkrecht zum Boden stand. Die Stelle für die Probenentnahme lag in dieser Position etwas kaudal der Mitte der Innenfläche des Oberschenkels etwa in Höhe des Euteransatzes.

Der *Musculus biceps femoris* ist ein oberflächlich an der Außenseite des Oberschenkels gelegener, kräftiger und seine Textur betreffend sehr fester Muskel. Seine kraniale Portion, welche einer dicken Sehnenplatte lateral aufliegt, entspringt am Kreuzbein und am breiten Beckenband und setzt großflächig an der Patella und der Fascia cruris an, welche das Kniegelenk umhüllt (LIEBICH et al., 2005b). Dieser Muskel wurde auf Höhe der halben Länge des Oberschenkelknochens, welcher sehr gut palpierbar ist, beprobt.

Der *Musculus quadriceps femoris* liegt kraniomedial des *Musculus biceps femoris* in vier Muskelbäuchen dem Oberschenkelknochen an. Er lässt sich unterteilen in drei direkt am Femur entspringende Anteile, den *Musculus vastus lateralis*, - *medialis* und - *intermedius*, und den vierten an der Darmbeinsäule entspringenden *Musculus rectus femoris*, welcher den anderen Muskelbäuchen kranial aufliegt (LIEBICH et al., 2005b). Alle Anteile verschmelzen in ihrem Verlauf miteinander und setzen gemeinsam an der *Tuberositas tibiae* und der *Patella* an (LIEBICH et al., 2005b). Im Rahmen dieser Arbeit wurde die kräftigste Portion, der *Musculus vastus lateralis* beprobt, indem nach Entnahme der Probe aus dem *Musculus biceps femoris* noch weiter in die Tiefe bis zu dem direkt dem Knochen anliegenden Muskel präpariert wurde.

Als weiterer Muskel an der Hintergliedmaße wurde der *Musculus semimembranosus* beprobt. Er zieht vom Sitzbein Richtung Kniekehle und bildet, oberflächlich zwischen Vulva und *Musculus semitendinosus* liegend, zusammen mit diesem die kaudale Kontur der Hinterbacke (LIEBICH et al., 2005b). Die Stelle für die Probenentnahme lag in Höhe des ventralen Vulvawinkels, wo der strangartige Muskel in etwa seinen größten Durchmesser erreicht.

Der *Musculus gastrocnemius* entspringt als Strecker des Sprunggelenks proximal der Kondylen des Oberschenkelbeins und setzt am Fersenbein an (LIEBICH et al., 2005b). Seine Endsehne formt die Achillessehne und bildet beim Wiederkäuer damit zusammen mit der Endsehne des *Musculus biceps femoris* und *-semitendinosus* den größten Anteil des Fersensehnenstrangs (LIEBICH et al., 2005b). Der *Musculus gastrocnemius* ist stark sehnig durchsetzt und konnte am leichtesten identifiziert werden, indem seine kräftige Ansatzsehne am Fersenbein nach proximal bis zu seinem Bauch verfolgt wurde. Die Probe wurde dann im mittleren Drittel des Muskelbauchs entnommen.

Von den Muskeln der Vordergliedmaße, welche beim Rind im Allgemeinen nur selten von traumatischen Schädigungen betroffen sind, wurde nur der *Musculus extensor carpi ulnaris* beprobt. Dieser sehnige Muskelstrang entspringt am lateralen Epikondylus des Oberarmbeins, zieht kaudolateral am Unterarm entlang, um dann beim Rind am *Os carpi accessorium* anzusetzen (LIEBICH et al., 2005a). Er unterstützt beim Pflanzenfresser – entgegen seiner Benennung – die Beugung des Karpalgelenks. Für die Probenentnahme wurde bei diesem Muskel die Stelle seiner stärksten Vorwölbung distal des Ellbogengelenks, kaudolateral am Unterarm und in dessen proximalem Drittel gewählt.

Um die Ergebnisse der Enzymgehaltsmessungen mit denen von FRAHM et al. (1978), welche den *Musculus sternomandibularis* am Hals beprobten, vergleichen zu können, wurde auch dieser Muskel in die Untersuchungen miteingeschlossen. Er zieht als bandartiger Strang vom Brustbein zum Unterkieferwinkel und dient bei beidseitiger Kontraktion der Beugung von Kopf und Hals und bei einseitiger Kontraktion als Seitwärtszieher (LIEBICH et al., 2005c). Der Zugang zur Probenentnahmestelle erfolgte im kranialen Drittel des Muskels, indem von einem Hautschnitt in der ventralen Medianen des Halses ausgehend nach dorsal präpariert wurde.

3.1.1.3 Durchführung der Muskelprobenentnahme

Die Beprobung der einzelnen Muskeln erfolgte spätestens 24 Stunden nach Euthanasie des Tieres, in der Regel aber etwa eine Stunde nach Eintritt des Todes. Der Tierkörper befand sich dabei in Seitenlage. Nachdem die Haut an der Entnahmestelle mithilfe eines Skalpells durchtrennt worden war, folgte die Präparation durch Unterhaut und Faszien bis auf den jeweiligen Muskel. Mit einem scharfen Messer wurde dann ein etwa 8 x 8 x 8 cm großes Muskelstück herausgeschnitten und in einem Gefrierbeutel verpackt.

3.1.1.4 Aufbewahrung der Muskelproben

Alle Muskelproben desselben Rindes wurden zusammen in einer Kunststoffbox verpackt und sofort nach der Probenentnahme in einem Gefrierschrank bei – 80 °C tiefgefroren. Die weitere Verarbeitung im Labor erfolgte dann innerhalb einer Woche.

3.1.1.5 Verarbeitung der Muskelproben

Die Verarbeitung der Muskelproben fand im Labor des *Instituts für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs* in Oberschleißheim statt. Ziel war es, aus den Muskelproben einen möglichst klaren Muskelsaft zu gewinnen, in dem dann mit dem herkömmlichen Serumenzymanalysegerät (912 E Analyzer, Roche/Hitachi, Mannheim) der *Klinik für Wiederkäuer* die Gehalte von CK und AST bestimmt werden konnten.

Die tiefgefrorenen Muskelstücke wurden zunächst etwa zwei Stunden lang bei Zimmertemperatur aufgetaut. Nachdem nun äußere Faszien und Fettgewebe mit einem scharfen Messer entfernt und das Muskelfleisch grob kleingeschnitten worden war, wurde es mithilfe eines Mixers (La Moulinette, Fa. Moulinex, KRUPS GmbH, Offenbach am Main) fein zerkleinert. Im nächsten Schritt wurden 2 g gehäckselttes Muskelfleisch in einem Becherglas abgewogen und mit 20 ml einer physiologischen

Kochsalzlösung aufgefüllt. Das Gemisch wurde nun 2 Minuten lang mithilfe eines Ultraturrax (Ultra-Turrax T25, Janke und Kunkel, IKA-Labortechnik, Staufen) homogenisiert. Danach wurden 10 ml des Homogenats in ein verschließbares Reagenzglas abgefüllt und in einer Kühlzentrifuge (Centrifuge 5804R, Eppendorf, Hamburg) 30 Minuten lang bei 4°C und 16.000 g ultrazentrifugiert.

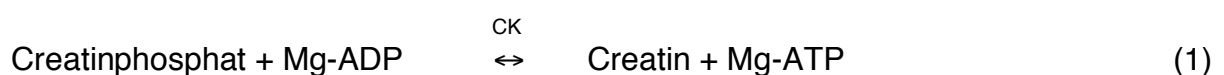
Nach jeder einzelnen Muskelprobe wurden alle verwendeten Geräte, wie Moulinette und Ultraturrax, sowie Messer, Schneidbrett und alle Bechergläser mit heißem Wasser und Spülmittel gereinigt, um Kontaminationen zwischen den Proben zu vermeiden.

Nach Abschluss der Zentrifugation wurde 1 ml des klaren Überstandes in ein Eppendorf Röhrchen abpipettiert und dieses bis zur Enzymmessung im Labor der *Klinik für Wiederkäuer* in einer Kühltasche mit Gefrierakkus aufbewahrt.

3.1.1.6 Messung der Konzentrationen von CK und AST

Die Bestimmung der Konzentrationen von CK und AST im Muskelsaft erfolgte sofort nach dessen Gewinnung im Labor der *Klinik für Wiederkäuer* in Oberschleißheim. Die Enzymaktivitäten wurden photometrisch mit dem Roche/Hitachi 912 E Analyzer bei 37°C gemessen, abgeleitet von den Empfehlungen der *International Federation of Clinical Chemistry*.

Die Aktivität der Creatinkinase wird dabei im kombinierten optischen Test mit Hexokinase als Hilfsenzym und Glucose-6-Phosphat-Dehydrogenase als Indikatorenszym bestimmt. Gemessen wird dabei die Zunahme der Konzentration von NADPH₂, welche direkt proportional zur Aktivität der CK ist.



Auch die Messung der Aktivität der Aspartat-Aminotransferase erfolgt photometrisch bei 37°C. Die AST katalysiert dabei die Übertragung der 2-Aminogruppe von Aspartat auf 2-Oxoglutarat unter Bildung von Glutamat und Oxalacetat. Die Oxalacetatzunahme wird in einer durch die Malat-Dehydrogenase katalysierten Indikatorreaktion bestimmt. Gemessen wird dabei die NADH₂-Abnahme, da sich diese proportional zur AST-Aktivität verhält.



Aus den gemessenen Enzymaktivitäten (in U/l) wurde im Anschluss der Gehalt von CK und AST pro Gramm Feuchtgewicht des Muskels berechnet.

Zu Beginn der praktischen Untersuchungen wurde außerdem die Haltbarkeit der Enzyme im Muskelsaft bei verschiedenen Lagerungsbedingungen getestet, um herauszufinden, ob ein späteres Nachmessen der Enzymwerte möglich und sinnvoll ist. An diesem Tag wurde zunächst der Muskelsaft aus fünf Muskeln nach oben beschriebenem Verfahren gewonnen und dann sofort im Anschluss die Konzentrationen von CK und AST bestimmt. Danach wurde von jeder Probe die Hälfte bei +4°C im Kühlschrank aufbewahrt und die andere Hälfte bei -25°C tiefgefroren. Am folgenden Tag wurden dann die CK- und AST-Aktivitäten in allen Proben erneut gemessen und mit der ersten Messung verglichen.

3.1.1.7 Vergleich mit den Ergebnissen von FRAHM et al. (1978)

Die Ergebnisse dieser Arbeit sollen mit denen von FRAHM et al. aus dem Jahr 1978 verglichen werden.

FRAHM et al. (1978) untersuchten unter anderem die Enzymaktivitäten von CK- und AST in verschiedenen Organen von 11 klinisch gesunden, laktierenden Holstein-

Friesian-Kühen. Stellvertretend für die Skelettmuskulatur wurde der kraniale Anteil des *M. sternomandibularis* beprobt.

Die Kühe wurden geschlachtet und 10 – 15 Minuten nach dem Entbluten wurden Proben von etwa 80 g Gewicht aus dem *M. sternomandibularis* entnommen, die dann sofort bei – 196°C in Flüssigstickstoff eingefroren wurden.

Die Verarbeitung der Muskelproben geschah nach folgender Methodik:

1. Zerteilung der Probe in tiefgefrorenem Zustand in feine Scheiben mit einem Skalpell.
2. Verarbeitung zu 1 : 6 Homogenaten mit eisgekühlter physiologischer NaCl-Lösung mithilfe eines Ultraturrax für 2 – 3 Minuten.
Das Gemisch befand sich dabei in einem Reagenzglas, welches in einem Becherglas mit Eiswürfeln stand, so dass die Temperatur des Homogenats während des Homogenierens nicht auf über + 10°C anstieg.
3. Anschließende Ultrazentrifugation des Homogenats bei + 4°C und 40.000 U/min (145.000 g) für 30 Minuten.
4. Abfüllen des klaren Überstands in 2 ml Portionen in Plastikfläschchen. Anschließendes Tiefgefrieren bei – 20°C.
5. Untersuchung der Proben innerhalb einer Woche.
Die Bestimmung der Aktivitäten von CK und AST erfolgte mit dem Auto-Analyzer II von Technicon mit den Chemikalienzusätzen derselben Firma bei 37°C. Die gemessenen Enzymaktivitäten wurden in IU pro Gramm Feuchtgewicht des Muskels angegeben.

Die Ergebnisse der CK- und AST-Bestimmungen von FRAHM et al. (1978) sind in Tabelle 3.1.1 zusammengefasst.

Tab. 3.1.1: CK- und AST-Gehalt im *M. sternomandibularis* (FRAHM et al., 1978)

	CK	AST
$\bar{x} \pm s$ [IU/g]	3140 ± 780	107 ± 31

3.1.2 Retrospektive Datenauswertung zur Ermittlung der Halbwertszeiten von CK und AST

3.1.2.1 Tiere

Im zweiten Teil der Arbeit wurden retrospektiv die archivierten Daten von 164 Patienten der *Klinik für Wiederkäuer* ausgewertet. Dazu wurden ausschließlich weibliche Rinder mit einem Alter von 18 Monaten oder älter ausgewählt, bei denen im Verlauf des Klinikaufenthalts mindestens zwei Mal Blut zur Serumenzymbestimmung genommen und untersucht worden war. Desweiteren mussten die Enzymaktivitäten von CK und AST bei mindestens einer Messung oberhalb des Referenzbereichs liegen. An der *Klinik für Wiederkäuer* in Oberschleißheim wird seit 2004 ein Wert für CK, welcher 245 U/l übersteigt, als erhöht angesehen, für AST gilt das ab einem Wert größer als 80 U/l.

Als weiteres Kriterium für die Auswahl eines Tieres musste ein Abfall der Werte für CK und AST erkennbar sein. Desweiteren durfte der Wert für die Glutamat-Dehydrogenase als Vertreter der Leberenzyme nicht sehr hoch, also über 1000 U/l sein, um eine Erhöhung der AST allein aufgrund einer Lebererkrankung weitestgehend auszuschließen. Bei Tieren mit einer GLDH von über 100 IU/l erfolgte die Kennzeichnung „mittelgradig erhöhte Leberwerte“.

3.1.2.2 Sammlung und Aufbereitung der Daten

Ziel dieser Datenauswertung war es, die natürlichen Halbwertszeiten von CK und AST beim kranken Tier zu ermitteln und zu prüfen, wie stark sich diese von den biologischen Halbwertszeiten unterscheiden, die schon von mehreren Autoren in Modellversuchen bestimmt wurden.

Zur möglichst genauen Berechnung der Halbwertszeiten musste der Zeitpunkt, an dem die jeweilige Blutprobe gezogen worden war, rückblickend ermittelt werden. An der *Klinik für Wiederkäuer* wurde zumindest bis zum Jahr 2004 immer, wenn eine

Vollblutprobe genommen wurde, auch eine Probe zur Blutgasanalyse gezogen. Die Blutgasanalyse erfolgt üblicherweise sofort nach der Blutentnahme mithilfe eines Blutgasmessgerätes im Notfalllabor im Stallbereich, die Serumprobe dagegen wird im klinikeigenen Labor meist mit etwas zeitlicher Verzögerung untersucht. Da der Ausdruck des Blutgasgerätes auch immer die Uhrzeit der Messung enthält, war es möglich, im Nachhinein den im Serum gemessenen Enzymaktivitäten die jeweiligen Zeitpunkte der Blutentnahme zuzuordnen.

Nachdem im nächsten Schritt das Zeitintervall zwischen zwei Enzymwertmessungen berechnet worden war, konnte die Halbwertszeit des Enzyms nach folgender Formel bestimmt werden:

$$HWZ = \frac{\ln 2}{(\ln(y_2) - \ln(y_1)) / \Delta t}$$

Dabei sind $\ln(y_1)$ und $\ln(y_2)$ die natürlichen Logarithmen der gemessenen Enzymwerte und Δt das dazwischen liegende Zeitintervall in Stunden.

Folgende Daten wurden in Excel-Tabellen aufgelistet: Kliniknummer des Tieres, Höhe des Leberenzym Glutamat-Dehydrogenase, Diagnosen, Anzahl, Datum und Uhrzeiten der Serumprobenentnahmen und im Serum gemessene CK- und AST-Aktivitäten. Aus den zwischen zwei Serumproben liegenden Zeitintervallen wurden die entsprechenden Halbwertszeiten für CK und AST berechnet. Ein Wert für eine Halbwertszeit mit negativem Vorzeichen bedeutete einen Aktivitätsanstieg des jeweiligen Enzyms im betrachteten Zeitintervall, ein positives Vorzeichen zeigte einen Abfall der Aktivität an.

3.1.3 Berechnungen mithilfe des CK/AST-Quotienten

Aus der in jeder Muskelprobe gemessenen CK- und AST-Aktivität wurde der CK/AST-Quotient errechnet. Alle ermittelten Quotienten wurden nach Muskeln geordnet in Excel-Tabellen gesammelt.

3.1.3.1 Zeitpunkt des Traumas und initiale CK-Aktivität im Serum

Ziel ist es, bei einmaliger Messung der CK- und AST-Aktivität im Serum mithilfe des ermittelten CK/AST-Quotienten im Muskel die Zeitspanne berechnen zu können, die seit dem Trauma mindestens verstrichen sein muss.

Zu diesem Zweck wurden die unten aufgezeichneten Formeln hergeleitet. Für ihre Anwendbarkeit müssen allerdings die in Kap. 2.5 beschriebenen Voraussetzungen erfüllt sein.

Zunächst muss die initiale CK-Aktivität berechnet werden, die direkt nach dem Muskeltrauma im Serum vorhanden war.

Dabei ist:

CK_a	=	aktuell gemessene CK-Aktivität [IU/l] im Serum
AST_a	=	aktuell gemessene AST-Aktivität [IU/l] im Serum
CK_0	=	initiale CK-Aktivität [IU/l] im Serum
AST_0	=	initiale AST-Aktivität [IU/l] im Serum
Q_M	=	CK/AST-Quotient im Muskel
HWZ_{CK}	=	Halbwertszeit der CK [h]
HWZ_{AST}	=	Halbwertszeit der AST [h]
Δt	=	Zeit seit Beginn
k	=	Zerfallskonstante
\ln	=	natürlicher Logarithmus

Formelherleitung:

Vorrausgesetzt sei, dass der CK/AST-Quotient im Muskel (Q_M) dem Verhältnis der initialen CK- und AST-Aktivitäten im Blutserum entspricht:

$$Q_M = \frac{CK_0}{AST_0} \quad (1)$$

$$AST_0 = \frac{CK_0}{Q_M} \quad (1a)$$

Für den einfachen logarithmischen Abfall gilt:

$$CK_a = CK_0 \cdot e^{-k \cdot \Delta t}$$

Durch Umkehr:

$$CK_0 = CK_a \cdot e^{k \cdot \Delta t} \quad \text{analog:} \quad AST_0 = AST_a \cdot e^{k \cdot \Delta t} \quad (2)$$

$$k = \frac{\ln(2)}{HWZ_{CK}} \quad \text{analog:} \quad k = \frac{\ln(2)}{HWZ_{AST}} \quad (3)$$

Nach Anwendung des natürlichen Logarithmus in Formel (2) und Einsetzen von (3) in (2) ergibt sich:

$$\ln(CK_0) = \ln(CK_a) + \frac{\ln(2)}{HWZ_{CK}} \cdot \Delta t \quad (2a)$$

analog:

$$\ln(\text{AST}_0) = \ln(\text{AST}_a) + \frac{\ln(2)}{\text{HWZ}_{\text{AST}}} \cdot \Delta t \quad (2a)$$

Die Umformung von (2a) nach Δt ergibt:

$$\Delta t = \frac{(\ln(\text{CK}_0) - \ln(\text{CK}_a)) \cdot \text{HWZ}_{\text{CK}}}{\ln(2)} \quad (2b)$$

analog:

$$\Delta t = \frac{(\ln(\text{AST}_0) - \ln(\text{AST}_a)) \cdot \text{HWZ}_{\text{AST}}}{\ln(2)} \quad (2b)$$

Da die seit dem Trauma verstrichene Zeitspanne Δt bei Betrachtung des Verlaufs der CK und der AST gleich ist, kann folgende Gleichung aufgestellt werden:

$$\frac{(\ln(\text{CK}_0) - \ln(\text{CK}_a)) \cdot \text{HWZ}_{\text{CK}}}{\ln(2)} = \frac{(\ln(\text{AST}_0) - \ln(\text{AST}_a)) \cdot \text{HWZ}_{\text{AST}}}{\ln(2)} \quad (4)$$

$$(\ln(\text{CK}_0) - \ln(\text{CK}_a)) \cdot \text{HWZ}_{\text{CK}} = (\ln(\text{AST}_0) - \ln(\text{AST}_a)) \cdot \text{HWZ}_{\text{AST}} \quad (4a)$$

Im Folgenden wird nur die Berechnung der initialen CK-Aktivität dargestellt. Die Berechnung der initialen AST-Aktivität ist analog möglich.

Nach Anwendung des natürlichen Logarithmus in Formel (1a) und Einsetzen von (1a) in (4a) ergibt sich:

$$(\ln(CK_0) - \ln(CK_a)) \cdot HWZ_{CK} = (\ln(CK_0) - \ln(Q_M) - \ln(AST_a)) \cdot HWZ_{AST} \quad (4b)$$

$$\begin{aligned} \ln(CK_0) \cdot HWZ_{CK} - \ln(CK_a) \cdot HWZ_{CK} &= \ln(CK_0) \cdot HWZ_{AST} - \ln(Q_M) \cdot HWZ_{AST} \\ &\quad - \ln(AST_a) \cdot HWZ_{AST} \end{aligned} \quad (4c)$$

$$\begin{aligned} \ln(CK_0) \cdot HWZ_{CK} - \ln(CK_0) \cdot HWZ_{AST} &= \ln(CK_a) \cdot HWZ_{CK} - \ln(Q_M) \cdot HWZ_{AST} \\ &\quad - \ln(AST_a) \cdot HWZ_{AST} \end{aligned} \quad (4d)$$

$$\begin{aligned} \ln(CK_0) \cdot (HWZ_{CK} - HWZ_{AST}) &= \ln(CK_a) \cdot HWZ_{CK} - \ln(Q_M) \cdot HWZ_{AST} \\ &\quad - \ln(AST_a) \cdot HWZ_{AST} \end{aligned} \quad (4d)$$

$$\ln(CK_0) = \frac{\ln(CK_a) \cdot HWZ_{CK} - \ln(Q_M) \cdot HWZ_{AST} - \ln(AST_a) \cdot HWZ_{AST}}{HWZ_{CK} - HWZ_{AST}} \quad (4e)$$

Ist die initiale CK-Aktivität bzw. ihr Logarithmus bekannt, so kann mithilfe der Formel (2b) die Zeit Δt berechnet werden, die seit Eintritt des Traumas mindestens vergangen sein muss:

$$\Delta t = \frac{(\ln(CK_0) - \ln(CK_a)) \cdot HWZ_{CK}}{\ln(2)} \quad (2b)$$

3.1.3.2 Zerstörte Muskelmasse

Ist die initial freigewordene Menge an CK (CK_0) und der CK-Gehalt pro Gramm Muskelmasse bekannt, so kann diejenige Menge an Muskelmasse berechnet werden, die bei dem Trauma zugrunde gegangen ist. In die Berechnungen muss das Volumen des Intravasalraumes, welches beim Rind etwa 7 % des Körpergewichts beträgt (FÜRLL, 2002), einfließen.

Die Formel lautet:

$$\text{Muskelmasse [g]} = \frac{CK_0 \cdot (7 \% \cdot \text{KGW})}{CK_{\text{Muskel}}} \quad (5)$$

Darin ist:

CK_0 = initiale CK-Aktivität [IU/l]

KGW = Körpergewicht [g]

CK_{Muskel} = CK-Gehalt im Muskel [IU/g]

Für die Anwendbarkeit dieser Formel müssen folgende Voraussetzungen erfüllt sein:

1. Der CK-Gehalt muss in allen Muskeln gleich sein.

Da, wie bereits in Kapitel 2.5 ausgeführt, in den meisten Fällen von Muskeltraumen bei Kühen nicht genau bekannt ist, welcher Muskel betroffen ist, muss zur Berechnung der zerstörten Muskelmasse ein identischer CK-Gehalt aller Muskeln vorausgesetzt werden.

2. Das Volumen des Intravasalraumes darf nicht verändert sein.

Im Speziellen könnte dies zum Beispiel durch hochgradige Dehydratation der Fall sein.

3. Es muss angenommen werden, dass sich CK-Moleküle aufgrund ihrer Größe nach ihrer Einschleusung in den Intravasalraum nur dort aufhalten.

3.1.4 Auswertung

3.1.4.1 Sammlung und Aufbereitung der Daten

Die Tiere wurden sowohl für die Muskelprobenentnahme als auch für die retrospektive Datenauswertung nach den in Kapitel 3.1.1.1 und 3.1.2.1 beschriebenen Kriterien ausgewählt und die Daten in Excel-Tabellen gesammelt. Anschließend wurde aus den in den Muskelanalysen erhaltenen Werten die jeweiligen Quotienten aus CK- und AST-Aktivität berechnet. Nachdem alle Daten der Größe nach geordnet worden waren, erfolgte die Auswertung mithilfe der Statistikprogramme PASW (*Predictive Analysis Software*) Version 18.0.0, früher als SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) bezeichnet (HOY und VASKE, 2007), und PAST (*Palaeontological Statistics*).

3.1.4.2 Untersuchung auf Normalverteilung

Zunächst wurden die in den Muskelanalysen gemessenen CK- und AST-Gehalte für jeden Muskel auf Normalverteilung geprüft. Dazu wurden mithilfe des statistischen Datenverarbeitungsprogrammes PASW (HOY und VASKE, 2007) Histogramme mit unterlegter Normalverteilungskurve gezeichnet. Dadurch war es möglich, erste Vermutungen über die Art der Verteilungen anzustellen und einen Eindruck von möglichen Ausreißern zu gewinnen. Desweiteren konnte die Schiefe der Verteilung beurteilt werden. Bei einer symmetrischen Verteilung beträgt diese Null. Nimmt sie einen positiven Wert an, so bedeutet dies, dass der Hauptteil der Messwerte auf der linken Seite liegt, die Verteilung ist also rechtsschief (PÖHLER, 2004). Liegen dagegen die meisten Werte auf der rechten Seite, so ist das Merkmal linksschief verteilt.

Im Folgenden wurden dann mit dem Statistikprogramm PAST Boxplots für den CK- und AST-Gehalt jedes untersuchten Muskels und für den CK/AST-Quotienten in jedem Muskel erstellt, um die aufgrund der Histogramme vermutete Art der Verteilungen zu bestätigen.

Auf gleiche Weise wurden auch die Muskelenzymgehalte bei verschiedenen Rinderrassen und in verschiedenen Altersgruppen und die retrospektiv ermittelten Halbwertszeiten von CK und AST analysiert. Ausreisser wurden jeweils als Punkte dargestellt.

3.1.4.3 Statistische Methoden

Die Unterschiede im Enzymgehalt verschiedener Muskeln und im Rasse- und Altersvergleich wurden mithilfe des Kruskal-Wallis-Tests und des paarweisen Vergleichs nach Mann-Whitney im PAST-Programm auf statistische Signifikanz überprüft. Im Anschluss daran wurde eine Bonferroni-Korrektur durchgeführt.

3.2 Ergebnisse

3.2.1 Muskelanalyse

3.2.1.1 Probenzahl

Im Rahmen dieser Arbeit wurden insgesamt sieben verschiedene Skelettmuskeln beprobt. Die Anzahl der Proben waren von Muskel zu Muskel unterschiedlich. Zu Beginn der praktischen Arbeiten wurden nur die *Mm. adductores*, der *M. biceps femoris* und der *M. extensor carpi ulnaris* beprobt. Im Laufe der Untersuchungen ergab sich allerdings die Frage, ob Unterschiede im Enzymgehalt der verschiedenen Muskeln bestünden, so dass in der Folge vier zusätzliche Muskeln, der *M. sternomandibularis*, der *M. gastrocnemius*, der *M. semimembranosus* und der *M. quadriceps femoris* beprobt wurden. Desweiteren konnten in drei Fällen keine Proben aus den *Mm. adductores* genommen werden, da die drei Kühe ein tiefreichendes Euter-Schenkel-Ekzem hatten, so dass eine Beteiligung der Adduktorenmuskulatur nicht ausgeschlossen werden konnte.

Bis zum Abschluss des praktischen Teils dieser Arbeit lagen 57 Proben der *Mm. adductores*, 60 Proben des *M. biceps femoris*, 9 Proben des *M. extensor carpi ulnaris*, 28 Proben des *M. sternomandibularis* und je 13 Proben des *M. gastrocnemius*, *semimembranosus* und *quadriceps femoris* vor, welche auf ihre CK- und AST-Aktivität pro Gramm Feuchtgewicht untersucht werden konnten.

3.2.1.2 Überprüfung der Wiederholbarkeit der Enzymbestimmungen

Zu Beginn der Muskelanalysen wurde überprüft, ob die Werte der CK- und AST-Messungen im Muskelsaft durch eine Lagerung der Proben im Kühlschrank bei +4°C oder im Gefrierschrank bei -25°C beeinflusst werden.

Nach 24-stündiger Aufbewahrung der Proben bei +4°C war die im Muskelsaft gemessene CK-Aktivität je nach Probe 2 – 20 % niedriger als am Vortag; nach Lagerung bei -25°C war sie 13 – 45 % niedriger. Hinsichtlich der AST-Aktivität unterlagen die am zweiten Tag gemessenen Werte großen Schwankungen. Nach Lagerung im Kühlschrank waren sie 5 – 27 % höher als am Vortag, nach Lagerung im Gefrierschrank teilweise bis zu 27 % höher, teilweise bis zu 49 % niedriger als bei der Erstmessung.

Aufgrund der starken Veränderungen in der Höhe der Enzymaktivitäten sowohl unter Kühlschrank-, als auch unter Gefrierschrankbedingungen wurde ein späteres Nachmessen der Werte als nicht sinnvoll erachtet.

Daher wurde jede Enzymmessung direkt nach der Gewinnung des Muskelsafts in doppelter Form durchgeführt und der Mittelwert aus den erhaltenen Aktivitäten gebildet.

3.2.1.3 Der CK-Gehalt in verschiedenen Skelettmuskeln beim Rind

Die für die Creatinkinase-Aktivität gemessenen Werte wurden zunächst in jedem Muskel auf Normalverteilung überprüft. Zu diesem Zweck wurden mithilfe des Statistikprogrammes PASW Histogramme für alle Muskeln jeweils mit unterlegter Normalverteilungskurve erstellt. Beispielhaft sind die Histogramme für den CK-Gehalt in den *Mm. adductores* und im *M. biceps femoris* in den Abbildungen 3.2.1 und 3.2.2 dargestellt.

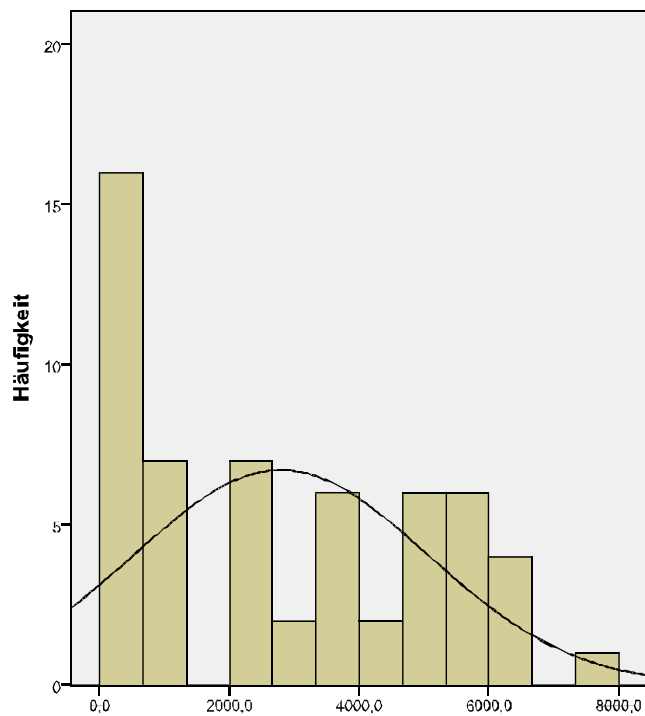


Abb. 3.2.1: Verteilung der CK-Aktivitäten in 57 Proben der *Mm. adductores* von Rindern

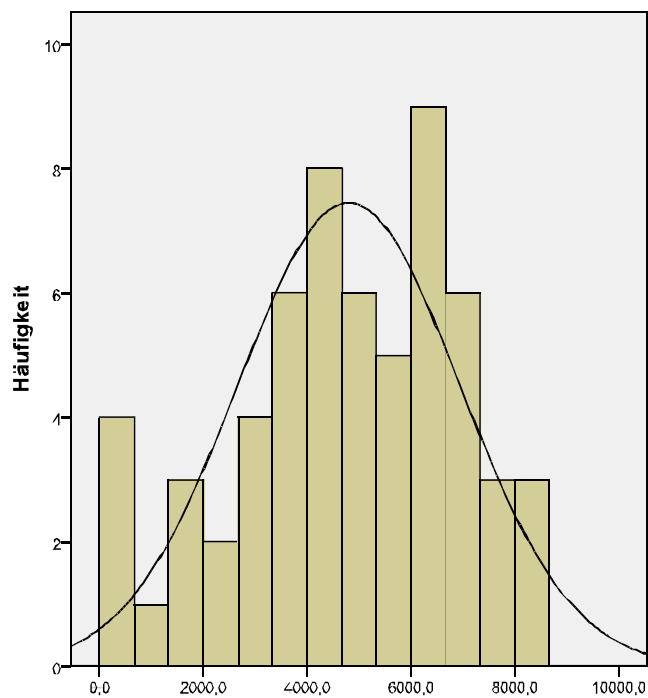


Abb. 3.2.2: Verteilung der CK-Aktivitäten in 60 Proben des *M. biceps femoris* von Rindern

Aus den Histogrammen konnte bereits ein erster Eindruck von der Art und der Schiefe der Verteilung gewonnen werden. Graphisch schien der CK-Gehalt in den *Mm. adductores*, dem *M. gastrocnemius* und dem *M. quadriceps femoris* rechtsschief, im *M. sternomandibularis* und im *M. semimembranosus* linksschief verteilt zu sein. Einzig für den *M. biceps femoris* konnte annähernd eine Normalverteilung der Werte vermutet werden.

Um die Vermutungen hinsichtlich der Verteilungen zu bestärken, wurden im PAST-Programm Boxplots für jeden Muskel angefertigt. Diese sind in der Abbildung 3.2.3 zusammengefasst.

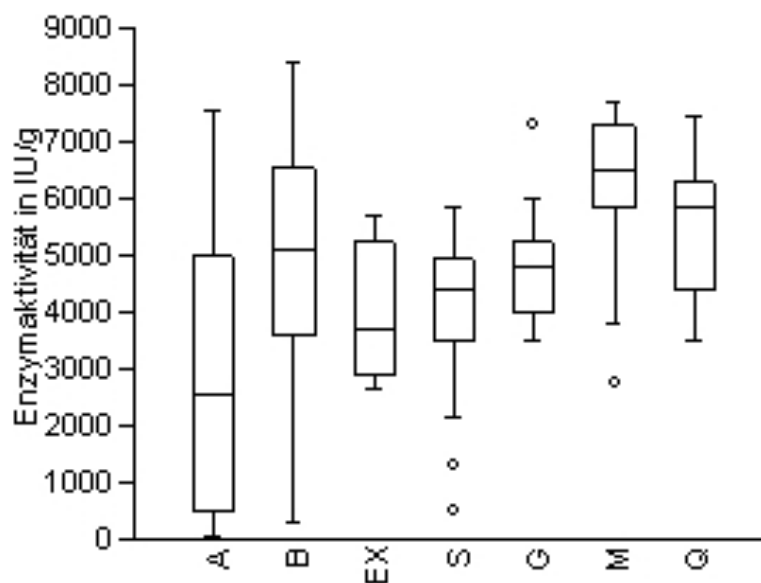


Abb. 3.2.3: Verteilung der CK-Aktivitäten in den untersuchten Muskeln

A = *Mm. adductores*; B = *M. biceps femoris*; EX = *M. extensor carpi ulnaris*;

S = *M. sternomandibularis*; G = *M. gastrocnemius*;

M = *M. semimembranosus*; Q = *M. quadriceps femoris*

Aus dem Box- und Whiskerdiagramm in Abbildung 3.2.3 wird deutlich, dass lediglich im *M. biceps femoris* der Median der CK-Werte in der Mitte der „Box“ liegt, was auf eine annähernde Normalverteilung schließen lässt. Die CK-Gehalte aller anderen Muskeln scheinen nicht normalverteilt zu sein. Weiterhin fällt eine starke Streuung der Werte vor allem bei den *Mm. adductores* und dem *M. biceps femoris* auf, ausgedrückt durch die weit ausgezogenen „Whiskers“.

Da die CK-Aktivität in den meisten Muskeln nicht normalverteilt war, wurde der Median anstatt des empirischen Mittelwerts als Lagemaß sowie der nichtparametrische Kruskal-Wallis-Test mit anschließender Bonferroni-Korrektur für die weitere statistische Analyse gewählt.

In der Gesamtheit ergaben sich statistisch signifikante Unterschiede im CK-Gehalt zwischen den untersuchten Muskeln. Im Einzelnen war der CK-Gehalt in den *Mm. adductores* ($m = 2540$ IU/g) hoch signifikant geringer ($p < 0,01$) als im *M. biceps femoris* ($m = 5120$ IU/g), *semimembranosus* ($m = 6510$ IU/g) und *quadriceps femoris* ($m = 5860$ IU/g). Vor Bonferroni-Korrektur war der Gehalt in den Adduktoren sogar im Vergleich zu allen Muskeln bis auf den *M. extensor carpi ulnaris* signifikant geringer. Außerdem war der CK-Gehalt im *M. sternomandibularis* ($m = 4400$ IU/g) hoch signifikant geringer als im *M. semimembranosus* ($p < 0,01$). Weitere Signifikanzen ergaben sich nicht. Die mediane CK-Aktivität im *M. extensor carpi ulnaris* betrug 3720 IU/g und im *M. gastrocnemius* 4780 IU/g.

Die Unterschiede sind in Abbildung 3.2.4 noch einmal anhand der medianen CK-Gehalte in den verschiedenen Muskeln dargestellt.

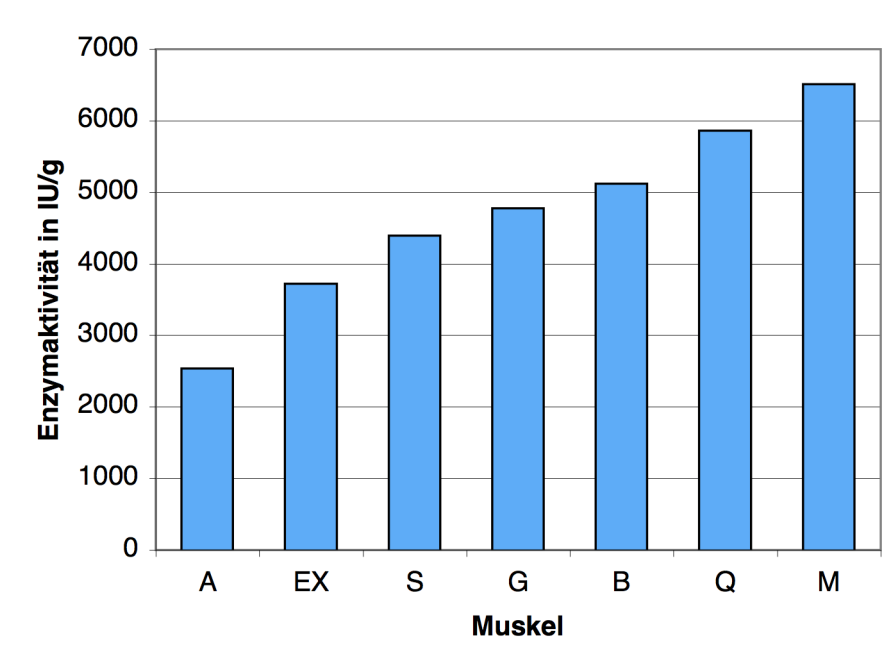


Abb. 3.2.4: Median des CK-Gehaltes in den untersuchten Muskeln

A = *Mm. adductores*; B = *M. biceps femoris*; EX = *M. extensor carpi ulnaris*;

S = *M. sternomandibularis*; G = *M. gastrocnemius*;

M = *M. semimembranosus*; Q = *M. quadriceps femoris*

3.2.1.4 Der AST-Gehalt in verschiedenen Skelettmuskeln beim Rind

Um eine erste Vermutung hinsichtlich der Verteilung der AST-Aktivität in den einzelnen Muskeln anstellen zu können, wurden mithilfe des Statistikprogrammes PASW zunächst Histogramme mit unterlegter Normalverteilungskurve für jeden Muskel erstellt.

Graphisch schienen dabei die AST-Gehalte in allen untersuchten Muskeln rechtsschief, also nicht normalverteilt zu sein.

Als Beispiel ist die Verteilung der AST-Aktivitäten in den *Mm. adductores* und im *M. biceps femoris* in den Abbildungen 3.2.5 und 3.2.6 dargestellt.

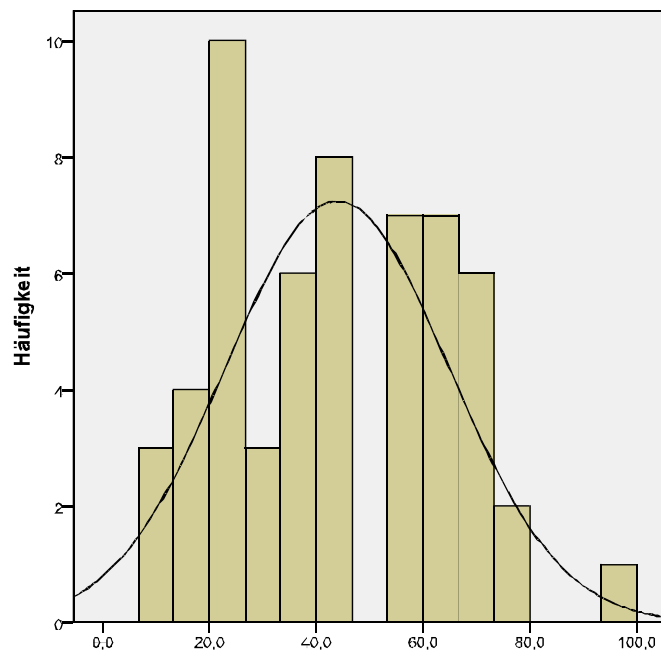


Abb. 3.2.5: Verteilung der AST-Aktivitäten in 57 Proben der *Mm. adductores* von Rindern

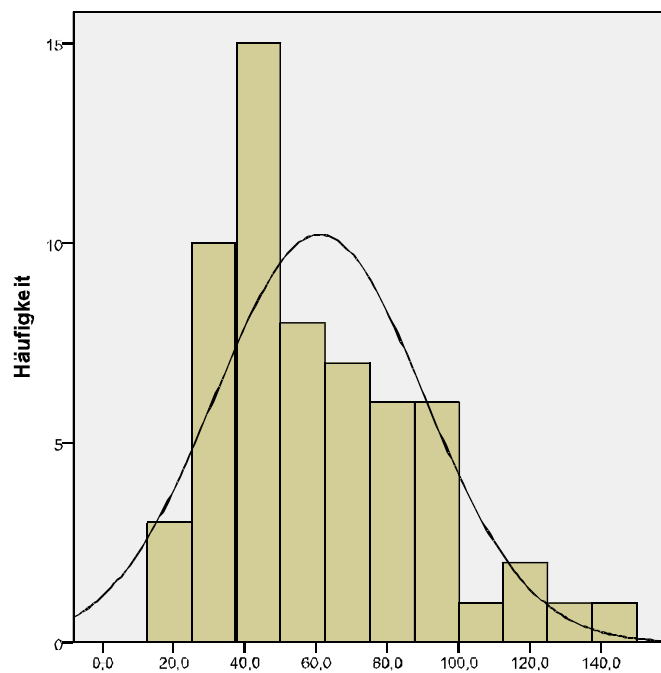


Abb. 3.2.6: Verteilung der AST-Aktivitäten in 60 Proben des *M. biceps femoris* von Rindern

Der in den Histogrammen gewonnene Eindruck, dass der AST-Gehalt in den Muskeln nicht normalverteilt ist, wurde durch die mit dem PAST-Programm erstellten Boxplots bestärkt (Abb. 3.2.7).

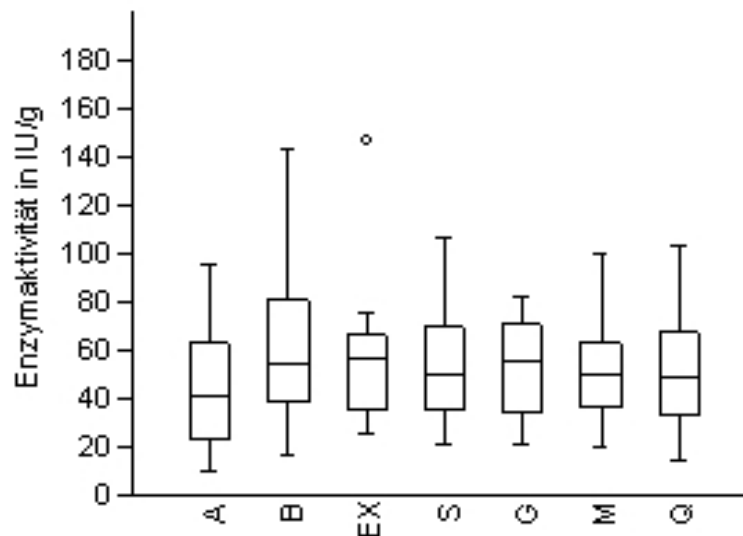


Abb. 3.2.7: Verteilung der AST-Aktivitäten in den untersuchten Muskeln

A = *Mm. adductores*; B = *M. biceps femoris*; EX = *M. extensor carpi ulnaris*;

S = *M. sternomandibularis*; G = *M. gastrocnemius*;

M = *M. semimembranosus*; Q = *M. quadriceps femoris*

Da die AST-Werte in den sieben Muskeln nicht normalverteilt waren, wurde der Median als Lagemaß und der Kruskal-Wallis-Test mit Bonferroni-Korrektur für die weitere statistische Analyse gewählt.

Dabei ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede im AST-Gehalt zwischen den sieben untersuchten Muskeln.

Die mediane Aktivität der AST betrug in den *Mm. adductores* 41,5 IU/g, im *M. biceps femoris* 54,9 IU/g, im *M. extensor carpi ulnaris* 56,2 IU/g, im *M. sternomandibularis*

49,7 IU/g, im *M. gastrocnemius* 55,1 IU/g, im *M. semimembranosus* 49,5 IU/g und im *M. quadriceps femoris* 48,6 IU/g (Abb. 3.2.8).

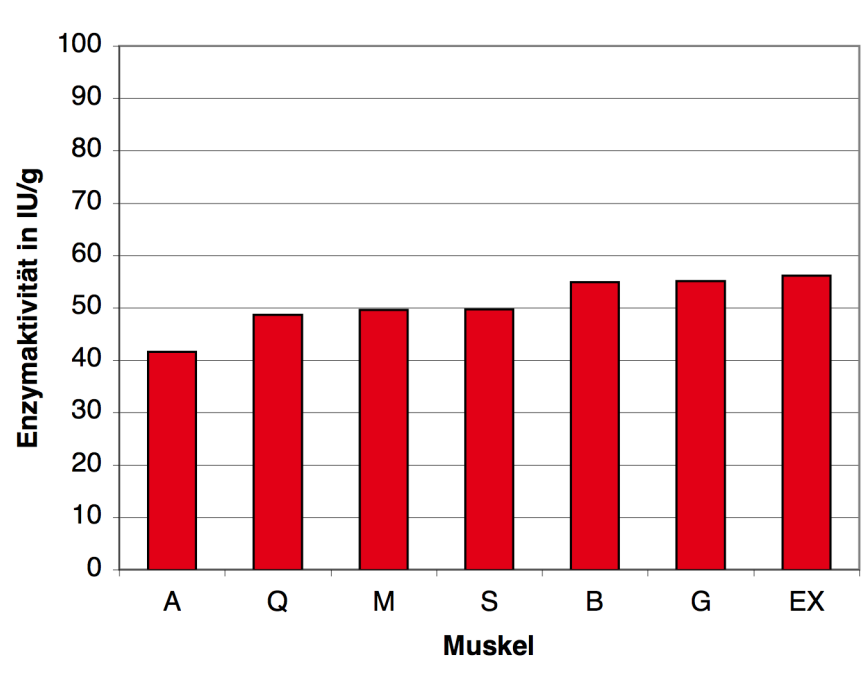


Abb. 3.2.8: Median des AST-Gehaltes in den untersuchten Muskeln

A = *Mm. adductores*; B = *M. biceps femoris*; EX = *M. extensor carpi ulnaris*;

S = *M. sternomandibularis*; G = *M. gastrocnemius*;

M = *M. semimembranosus*; Q = *M. quadriceps femoris*

3.2.1.5 Der CK/AST-Quotient in verschiedenen Skelettmuskeln beim Rind

Nach Abschluss der praktischen Arbeiten wurden die Werte für den CK/AST-Quotienten in den verschiedenen Muskeln auf Normalverteilung geprüft. Beispielhaft sind in den Abbildungen 3.2.9 und 3.2.10 die mit dem PASW-Programm erstellten Histogramme für die Verteilung der Werte des CK/AST-Quotienten in den *Mm. adductores* und in *M. biceps femoris* dargestellt.

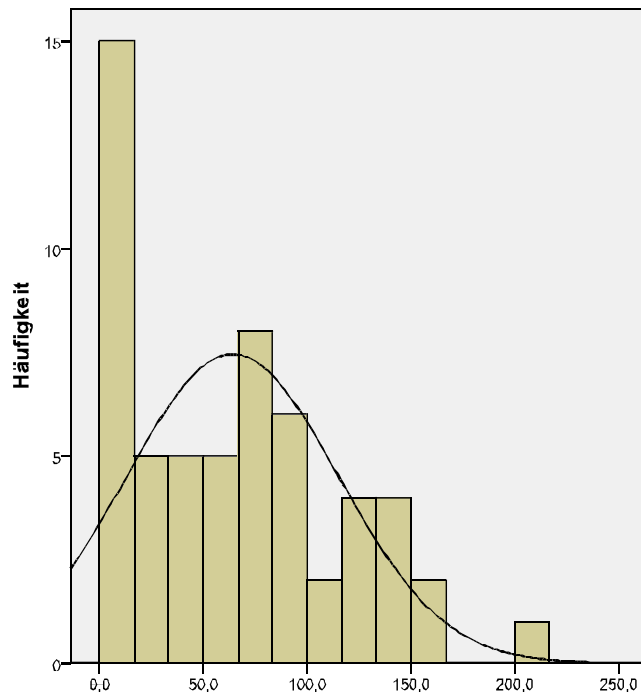


Abb. 3.2.9: Verteilung der Werte des CK/AST-Quotienten in 57 Proben der *Mm. adductores* bei Rindern

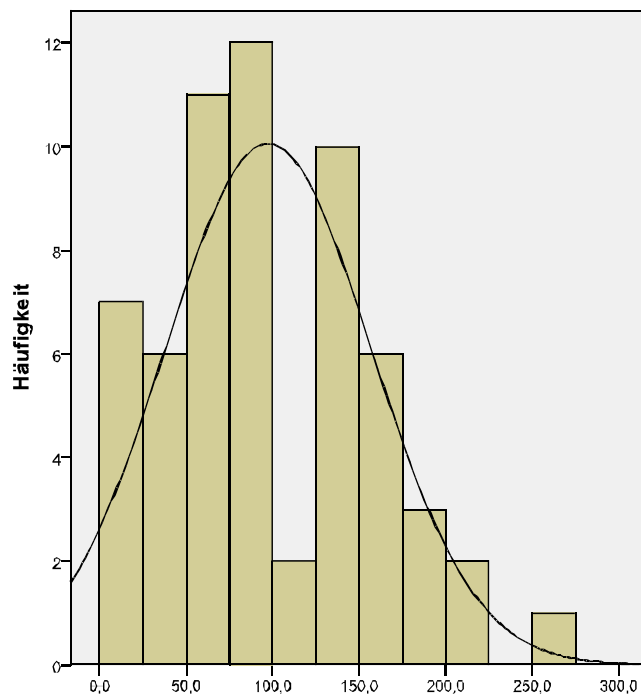


Abb. 3.2.10: Verteilung der Werte des CK/AST-Quotienten in 60 Proben des *M. biceps femoris* bei Rindern

Die Histogramme der Werte für den CK/AST-Quotienten zeigten für alle untersuchten Muskeln eine rechtsschiefe Verteilung. Auch bei Betrachtung der Box- und Whiskerdiagramme bestätigte sich die Vermutung, dass die Werte für den CK/AST-Quotienten in den sieben Muskeln nicht normalverteilt waren (Abb. 3.2.11).

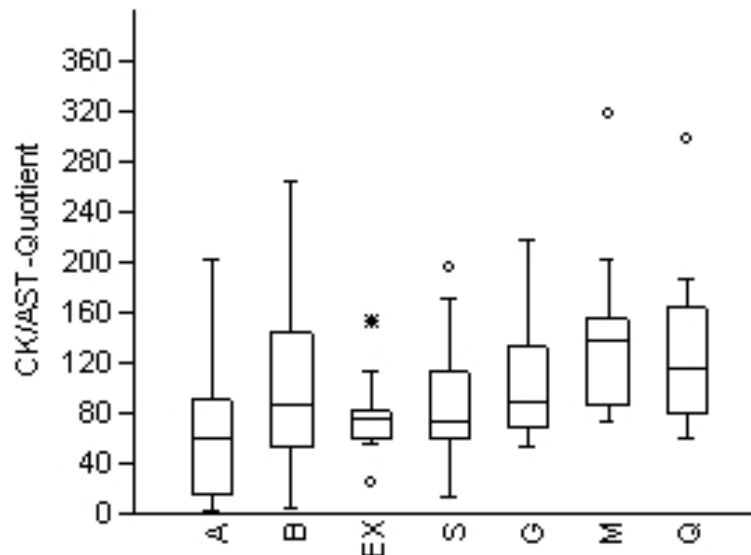


Abb. 3.2.11: Verteilung der Werte des CK/AST-Quotienten in den untersuchten Muskeln

A = *Mm. adductores*; B = *M. biceps femoris*; EX = *M. extensor carpi ulnaris*;

S = *M. sternomandibularis*; G = *M. gastrocnemius*;

M = *M. semimembranosus*; Q = *M. quadriceps femoris*

Der Kruskal-Wallis-Test ergab statistisch signifikante Unterschiede in den CK/AST-Quotienten der untersuchten Muskeln. Im Einzelnen war der Quotient in den *Mm. adductores* ($m = 59,7$) signifikant niedriger als im *M. biceps femoris* ($m = 86,0$; $p = 0,04$) und im *M. quadriceps femoris* ($m = 114,6$; $p = 0,03$). Außerdem war der CK/AST-Quotient in den Adduktoren hoch signifikant niedriger ($p < 0,01$) als im *M. semimembranosus* ($m = 137,4$).

Weitere statistisch signifikante Unterschiede ergaben sich nicht.

Die medianen Werte für den CK/AST-Quotienten in den untersuchten Muskeln sind in Abbildung 3.2.12 graphisch dargestellt.

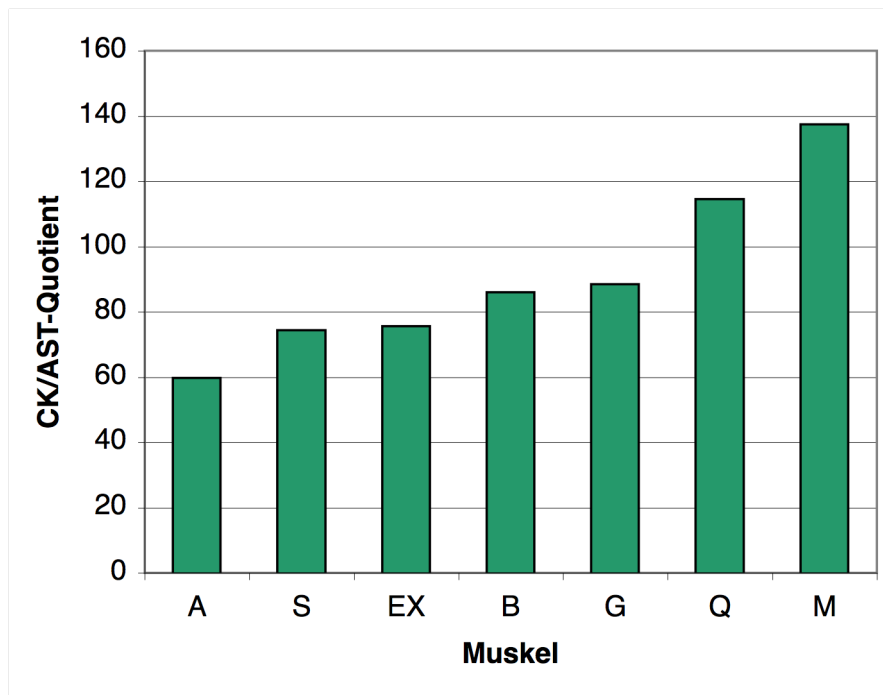


Abb. 3.2.12: Median des CK/AST-Quotienten in den untersuchten Muskeln

A = *Mm. adductores*; B = *M. biceps femoris*; EX = *M. extensor carpi ulnaris*;

S = *M. sternomandibularis*; G = *M. gastrocnemius*;

M = *M. semimembranosus*; Q = *M. quadriceps femoris*

In der Tabelle 3.2.1 sind die Werte für die CK- und AST-Aktivität, sowie für den CK/AST-Quotienten in den sieben untersuchten Muskeln zusammengefasst.

Tab. 3.2.1: CK-, AST-Gehalt und CK/AST-Quotient

A = *Mm. adductores*; B = *M. biceps femoris*; EX = *M. extensor carpi ulnaris*;

S = *M. sternomandibularis*; G = *M. gastrocnemius*;

M = *M. semimembranosus*; Q = *M. quadriceps femoris*;

m = Median; x = arithmetischer Mittelwert; s = Standardabweichung; Quo = Quotient

	A	B	EX	S	G	M	Q
m CK [IU/g]	2540	5120	3720	4400	4780	6510	5860
x ± s CK [IU/g]	2800 ± 2260	4800 ± 2140	3950 ± 1190	4100 ± 1270	4860 ± 1070	6170 ± 1500	5330 ± 1320
m AST [IU/g]	41,5	54,9	56,2	49,7	55,1	49,5	48,6
x ± s AST [IU/g]	43,9 ± 20,9	61,0 ± 29,3	60,8 ± 36,3	53,4 ± 21,0	53,1 ± 21,0	52,0 ± 23,2	50,3 ± 24,7
m Quo	59,7	86,1	75,7	74,3	88,5	137,4	114,6
x ± s Quo	64,1 ± 50,9	97,5 ± 59,5	79,0 ± 36,8	86,4 ± 42,6	107,3 ± 51,2	137,9 ± 66,8	128,2 ± 65,1

3.2.1.6 Vergleich mit den Ergebnissen von FRAHM et al. (1978)

Die in dieser Studie ermittelten CK- und AST-Gehalte im *M. sternomandibularis* wurden den Ergebnissen von FRAHM et al. (1978) in der folgenden Tabelle gegenübergestellt (Tab. 3.2.2). Zu beachten ist, dass FRAHM et al. (1978) den Mittelwert als Lagemaß verwendeten, wogegen in dieser Studie der Median gewählt wurde.

Tab. 3.2.2: CK- und AST-Gehalt im *M. sternomandibularis*

	FRAHM et al. (1978)	eigene Ergebnisse
	$\bar{x} \pm s$	m
CK [IU/g]	3140 \pm 780	4400
AST [IU/g]	107 \pm 31	49,7
CK/AST-Quotient	29,4	74,3

Aus Tabelle 3.2.2 lässt sich erkennen, dass die in dieser Arbeit gemessene CK-Aktivität im *M. sternomandibularis* etwa 1,4 mal so hoch war wie die von FRAHM et al. (1978) ermittelte. Gleichzeitig war die AST-Aktivität nur annähernd halb so hoch wie in der Studie von FRAHM et al. (1978).

Folglich war der CK/AST-Quotient in den eigenen Untersuchungen auch deutlich höher als in der Vergleichsstudie.

3.2.1.7 Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts vom Alter

Zur Untersuchung der Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts vom Alter wurden die Probanden zunächst in drei Altersgruppen eingeteilt:

Gruppe 1: $\leq 2,5$ Jahre

Gruppe 2: 2,6 bis 6 Jahre

Gruppe 3: > 6 Jahre

Grundlage dieser Einteilung war die Fragestellung, ob es einen Unterschied im Muskelenzymgehalt bei jungen (Kalbinnen und Erstkalbskühe) im Vergleich zu mittelalten und alten Kühen gibt.

Im Folgenden wurden nur die CK- und AST-Gehalte in den *Mm. adductores* und im *M. biceps femoris* hinsichtlich ihrer Altersabhängigkeit untersucht, da die

Stichprobenzahl bei den anderen untersuchten Muskeln für eine Einteilung in Altersgruppen zu gering ausfiel.

Mm. adductores

Zunächst wurden mithilfe des PAST-Statistikprogrammes Boxplots erstellt, um einen ersten Eindruck von der Verteilung der gemessenen CK- (Abb. 3.2.13) und AST-Aktivitäten (Abb. 3.2.14) in den verschiedenen Muskeln zu gewinnen.

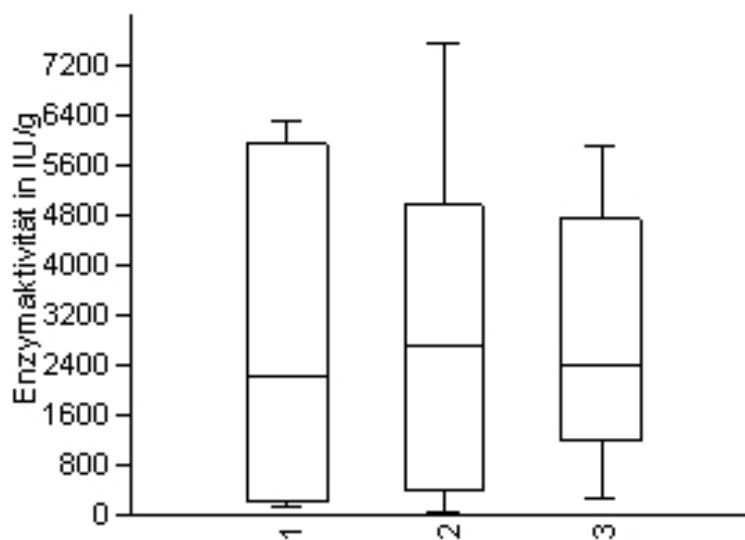


Abb. 3.2.13: Verteilung der CK-Aktivitäten in den *Mm. adductores* in verschiedenen Altersgruppen

1 = bis 2,5 Jahre; **2** = 2,6 – 6 Jahre; **3** = älter als 6 Jahre

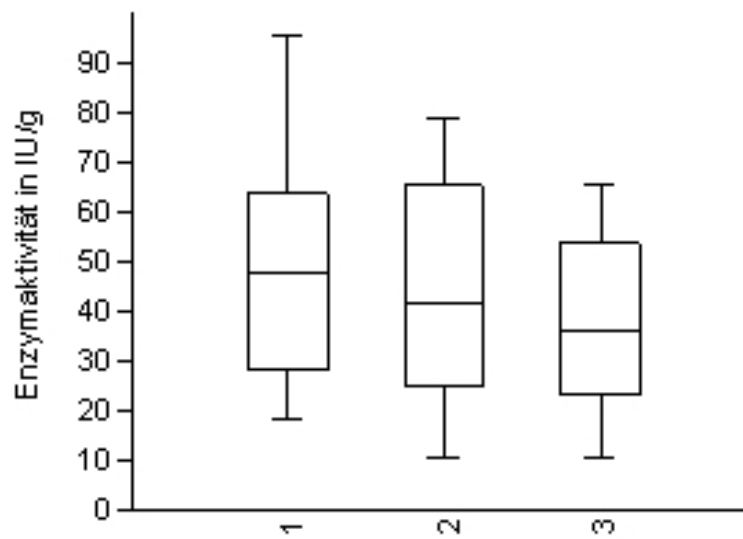


Abb. 3.2.14: Verteilung der AST-Aktivitäten in den *Mm. adductores* in verschiedenen Altersgruppen

1 = bis 2,5 Jahre; **2** = 2,6 – 6 Jahre; **3** = älter als 6 Jahre

In die erste Gruppe der unter 2,5 Jahre alten Tiere fielen acht Probanden. Der mediane CK-Gehalt betrug 2220 IU/g, der mediane AST-Gehalt 48,1 IU/g. 36 Kühe konnten der zweiten Altersgruppe mit einem medianen CK-Gehalt von 2700 IU/g und einem medianen AST-Gehalt von 41,9 IU/g zugeordnet werden. Auf die letzte Gruppe der über sechs Jahre alten Kühe entfielen 13 Tiere mit einem medianen CK-Gehalt von 2420 IU/l und einem medianen AST-Gehalt von 35,9 IU/l.

Die Enzymgehalte waren in allen drei Altersgruppen nicht normalverteilt, so dass auch in diesem Fall der Kruskal-Wallis-Test für die weitere statistische Analyse gewählt wurde.

Es ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede weder in der CK-, noch in der AST-Aktivität in den Adduktoren zwischen den untersuchten Altersgruppen.

M. biceps femoris

Auch bei Betrachtung des *M. biceps femoris* führten die Boxplots für die CK- (Abb. 3.2.15) und AST-Gehalte (Abb. 3.2.16) in den drei Altersgruppen zu der Vermutung, dass keine Normalverteilung vorlag.

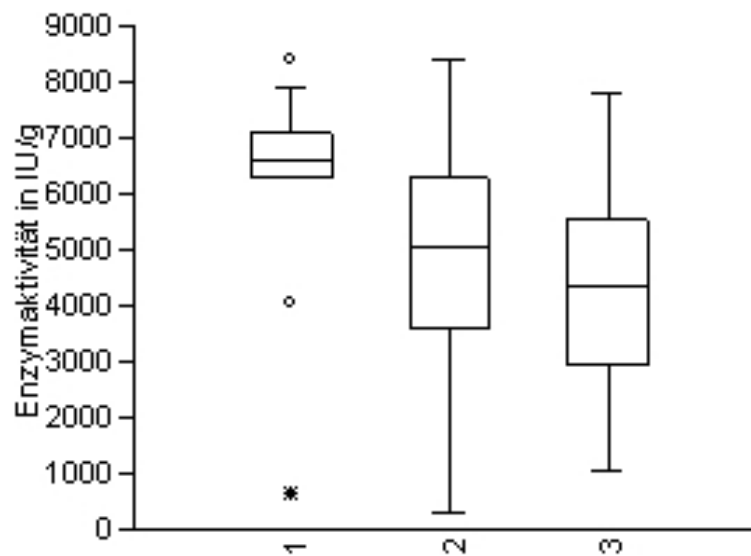


Abb. 3.2.15: Verteilung der CK-Aktivitäten im *M. biceps femoris* in verschiedenen Altersgruppen

1 = bis 2,5 Jahre; 2 = 2,6 – 6 Jahre; 3 = älter als 6 Jahre

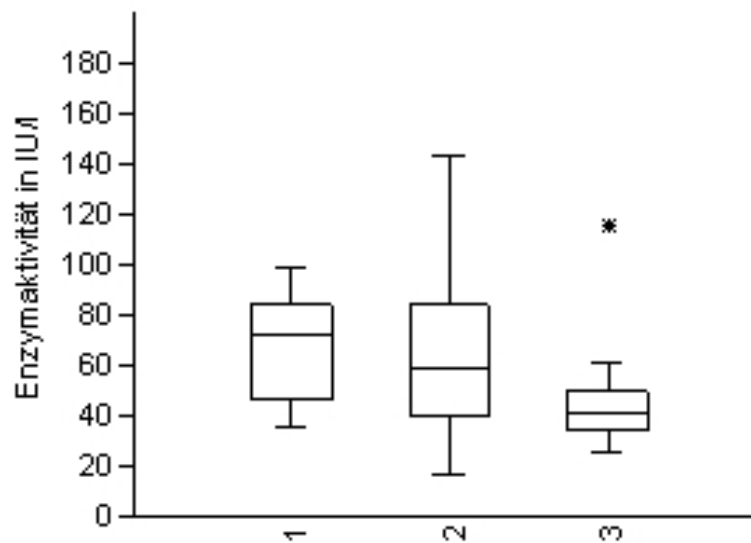


Abb. 3.2.16: Verteilung der AST-Aktivitäten im *M. biceps femoris* in verschiedenen Altersgruppen

1 = bis 2,5 Jahre; **2** = 2,6 – 6 Jahre; **3** = älter als 6 Jahre

Im Kruskal-Wallis-Test ergaben sich nach Bonferroni-Korrektur keine statistisch signifikanten Unterschiede in der CK- oder der AST-Aktivität im *M. biceps femoris* zwischen den verschiedenen Altersgruppen.

3.2.1.8 Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts von der Rasse

Die im Rahmen dieser Arbeit beprobten 60 Rinder gliederten sich in folgende Rassen: 43 Fleckviehkühe, 10 Schwarzbunte, sechs Braunvieh und ein Charolais.

In die Untersuchung der Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts von der Rasse wurden aufgrund der geringen Stichprobenzahl bei der Rasse Charolais nur die Rassen Fleckvieh, Schwarzbunt und Braunvieh eingeschlossen.

Weiterhin wurden auch bei dem Rassevergleich nur die Enzymgehalte in den *Mm. adductores* und im *M. biceps femoris* analysiert, da die Stichprobenzahl der anderen Muskeln nach Einteilung in die drei Rassegruppen zu gering ausfiel.

Mm. adductores

Für die Analyse des Enzymgehalts in den Adduktoren standen 40 Proben von Fleckviehkühen, 10 von Schwarzbunten und 6 von Braunviehkühen zur Verfügung. Um eine erste Einschätzung hinsichtlich der Verteilung der CK- (Abb. 3.2.17) und AST-Aktivitäten (Abb. 3.2.18) in den Adduktoren bei den verschiedenen Rinderrassen vornehmen zu können, wurden im PAST-Programm Boxplots erstellt. Die Betrachtung der Diagramme führte zu der Vermutung, dass weder die CK- noch die AST-Aktivitäten in den drei Rassegruppen normalverteilt waren.

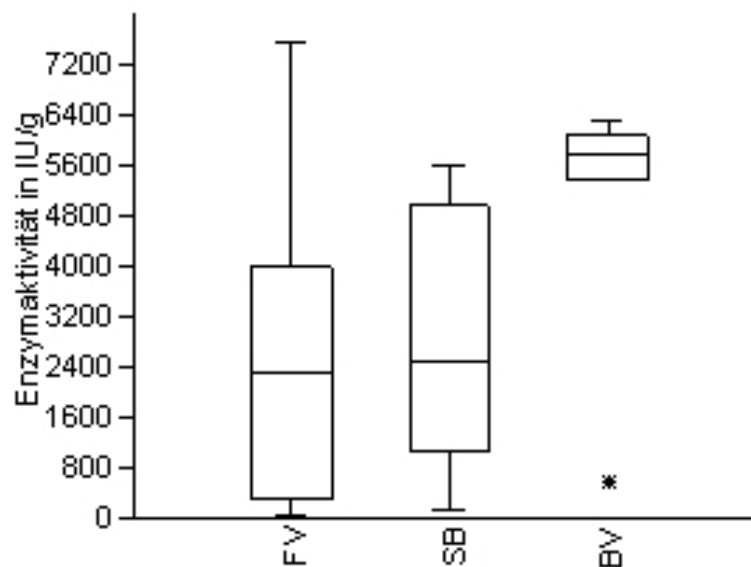


Abb. 3.2.17: Verteilung der CK-Aktivitäten in den *Mm. adductores* bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; **SB** = Schwarzbunt; **BV** = Braunvieh

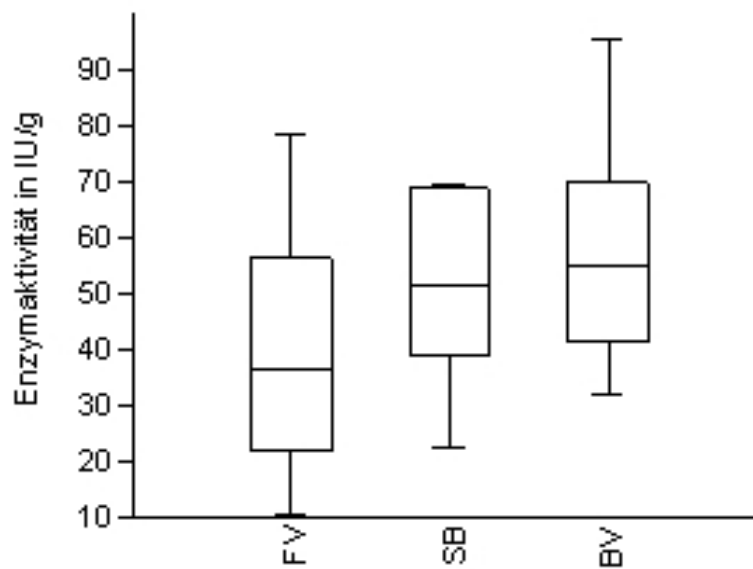


Abb. 3.2.18: Verteilung der AST-Aktivitäten in den *Mm. adductores* bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; **SB** = Schwarzbunt; **BV** = Braunvieh

Nach Durchführung des Kruskal-Wallis-Tests mit Bonferroni-Korrektur ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied ($p = 0,03$) im CK-Gehalt der Adduktoren zwischen Fleckvieh- und Braunviehkühen. Tiere der Rasse Braunvieh ($m = 5780$ IU/g) wiesen einen 2,5 mal so hohen medianen CK-Gehalt auf wie Tiere der Rasse Fleckvieh ($m = 2300$ IU/l). Statistisch signifikante Unterschiede zum CK-Gehalt bei schwarzbunten Kühen ($m = 2490$ IU/g) bestanden in dieser Studie nicht.

Hinsichtlich des AST-Gehalts in den Adduktoren gab es keine statistisch signifikanten Unterschiede zwischen den untersuchten Rassen.

In den Abbildungen 3.2.19 und 3.2.20 sind die medianen CK- bzw. AST-Gehalte in den *Mm. adductores* bei den untersuchten Rinderrassen graphisch dargestellt.

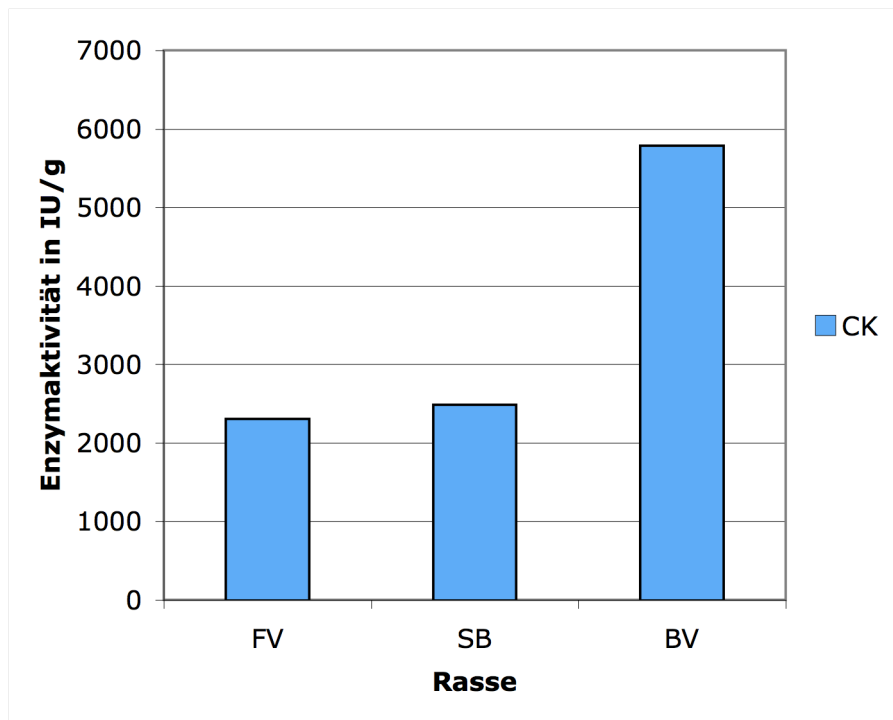


Abb. 3.2.19: Median des CK-Gehaltes in den Addukturen bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; **SB** = Schwarzbunt; **BV** = Braunvieh

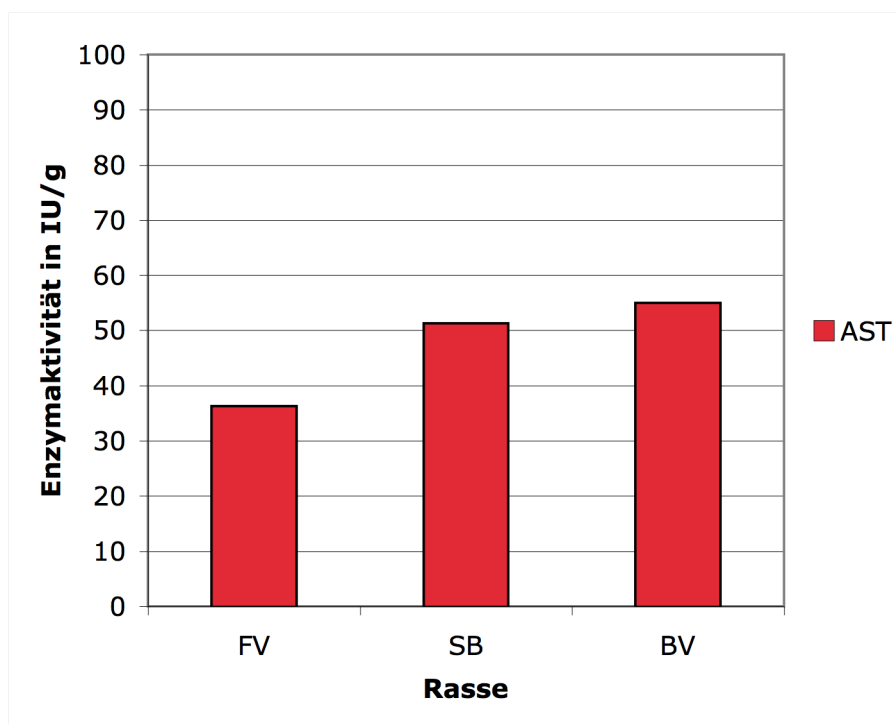


Abb. 3.2.20: Median des AST-Gehaltes in den Addukturen bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; **SB** = Schwarzbunt; **BV** = Braunvieh

M. biceps femoris

Für die Untersuchung des Enzymgehalts im *M. biceps femoris* standen 43 Proben von Fleckviehkühen, 10 von Schwarzbunten und 6 von Braunviehkühen zur Verfügung.

Die Boxplots für die CK- und AST-Gehalte im *M. biceps femoris* (Abb. 3.2.21 und 3.2.22) ließen vermuten, dass bei allen drei Rinderrassen keine Normalverteilung vorlag.

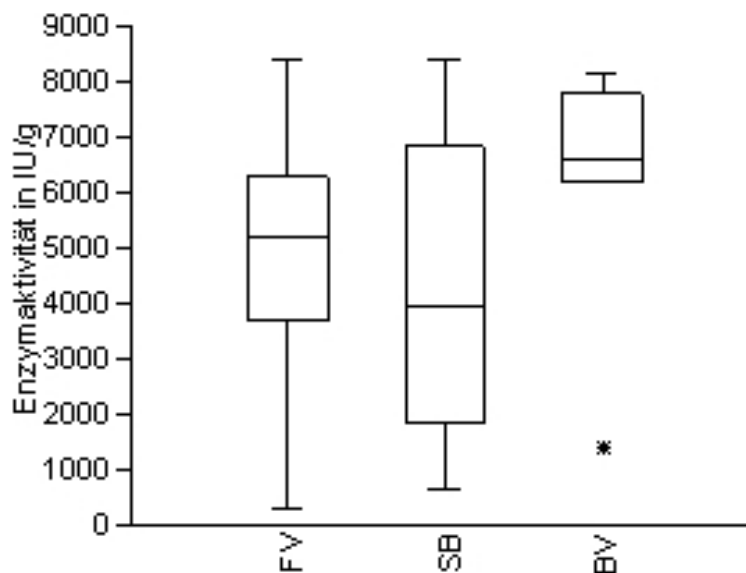


Abb. 3.2.21: Verteilung der CK-Aktivitäten im *M. biceps femoris* bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; **SB** = Schwarzbunt; **BV** = Braunvieh

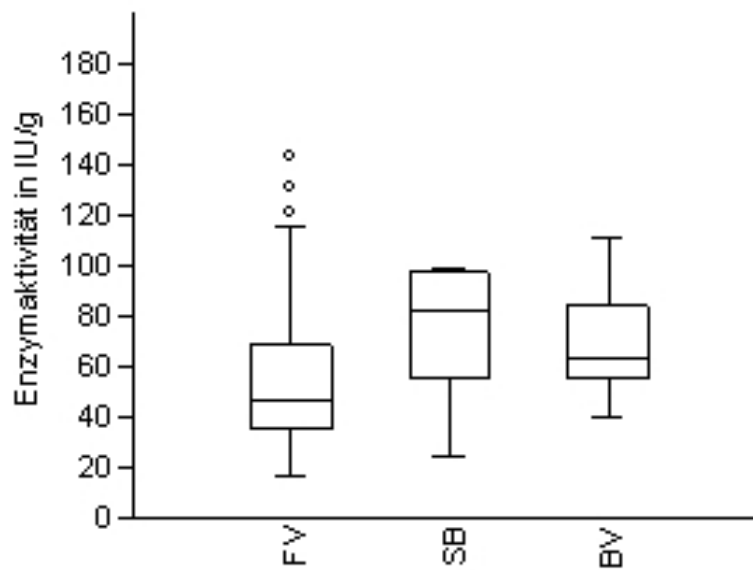


Abb. 3.2.22: Verteilung der AST-Aktivitäten im *M. biceps femoris* bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; **SB** = Schwarzbunt; **BV** = Braunvieh

Im Kruskal-Wallis-Test waren weder die Unterschiede im CK- noch im AST-Gehalt des *M. biceps femoris* zwischen den drei untersuchten Rinderrassen statistisch signifikant.

Die medianen Enzymgehalte im *M. biceps femoris* bei Fleckvieh-, Schwarzbunt- und Braunviehkühen sind in Abb. 3.2.23 und 3.2.24 graphisch dargestellt.

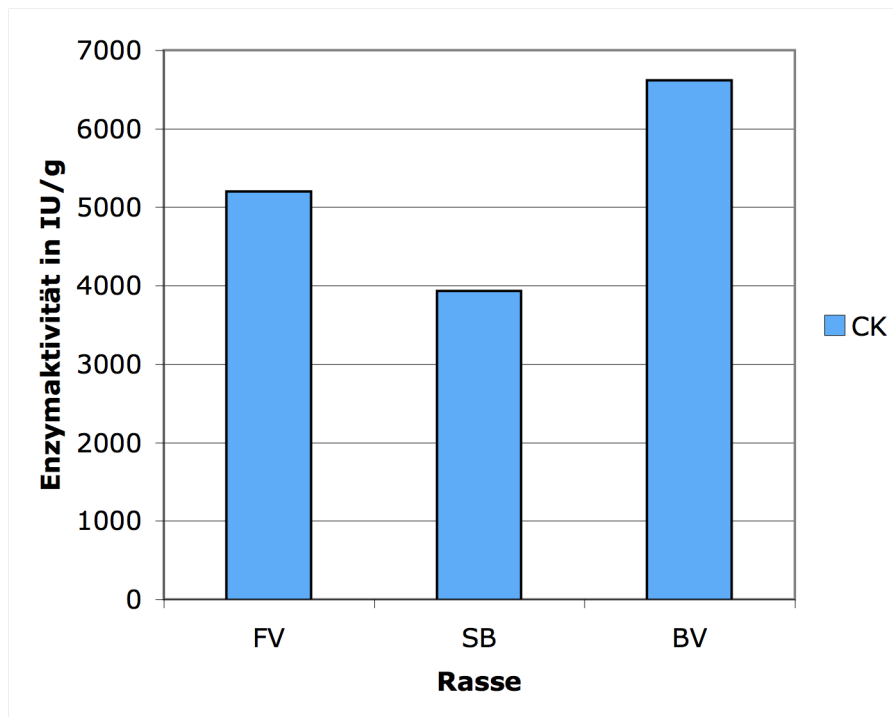


Abb. 3.2.23: Median des CK-Gehaltes im *M. biceps femoris* bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; **SB** = Schwarzbunt; **BV** = Braunvieh

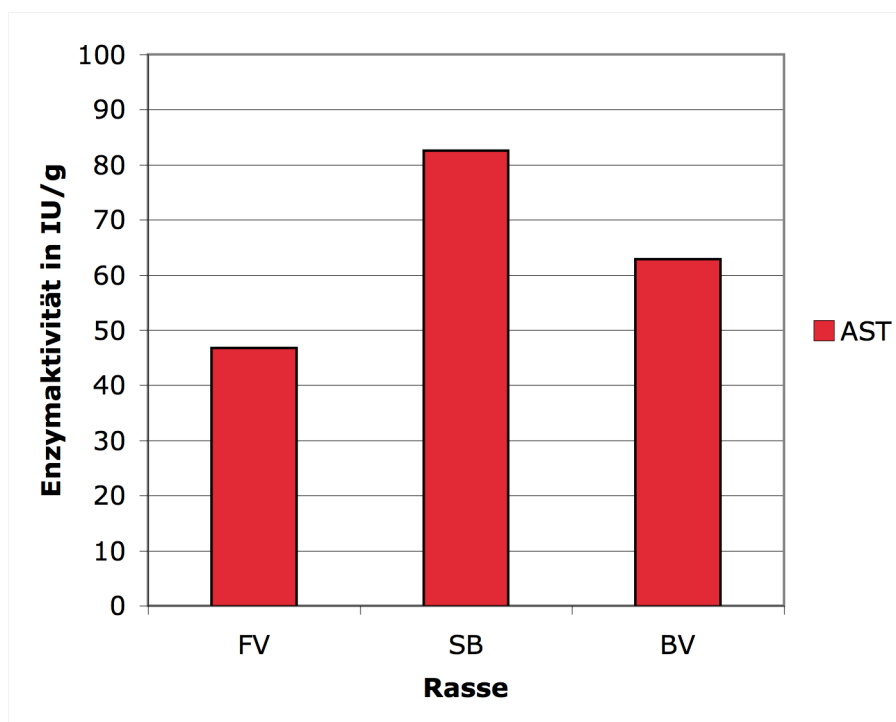


Abb. 3.2.24: Median des AST-Gehaltes im *M. biceps femoris* bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; **SB** = Schwarzbunt; **BV** = Braunvieh

Die Werte für CK- und AST-Gehalte sowie die daraus errechneten CK/AST-Quotienten in den *Mm. adductores* und im *M. biceps femoris* bei den drei näher untersuchten Rinderrassen sind in den folgenden Tabellen zusammengefasst.

Tab. 3.2.3: CK-, AST-Gehalt und CK/AST-Quotient in den *Mm. adductores* bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; SB = Schwarzbunt; BV = Braunvieh;

m = Median; x = arithmetischer Mittelwert; s = Standardabweichung

	FV	SB	BV
m CK [IU/g]	2300	2490	5780
x ± s CK [IU/g]	2500 ± 2180	2790 ± 2030	4990 ± 2200
m AST [IU/g]	36,3	51,3	55,0
x ± s AST [IU/g]	39,2 ± 20,1	51,4 ± 17,0	58,2 ± 23,3
m CK/m AST - Quo	63,5	48,5	105,1

Tab. 3.2.4: CK-, AST-Gehalt und CK/AST-Quotient im *M. biceps femoris* bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh; SB = Schwarzbunt; BV = Braunvieh;

m = Median; x = empirischer Mittelwert; s = Standardabweichung

	FV	SB	BV
m CK [IU/g]	5200	3930	6620
x ± s CK [IU/g]	4790 ± 2020	4300 ± 2570	6140 ± 2430
m AST [IU/g]	46,8	82,5	62,9
x ± s AST [IU/g]	56,3 ± 29,8	72,3 ± 26,8	69,7 ± 25,1
m CK/m AST - Quo	111,1	47,6	105,2

3.2.2 Retrospektive Datenauswertung

3.2.2.1 Ermittlung der natürlichen Halbwertszeiten von CK und AST

Von jedem Tier wurde die kürzeste gefundene Halbwertszeit für CK und AST ausgewählt und in eine neue Excel-Tabelle übertragen.

Mithilfe des PAST-Programmes wurden im Anschluss daran Boxplots (Abb. 3.2.24) für die ermittelten Halbwertszeiten von CK und AST erstellt, um einen ersten Eindruck von ihrer Verteilung zu erhalten.

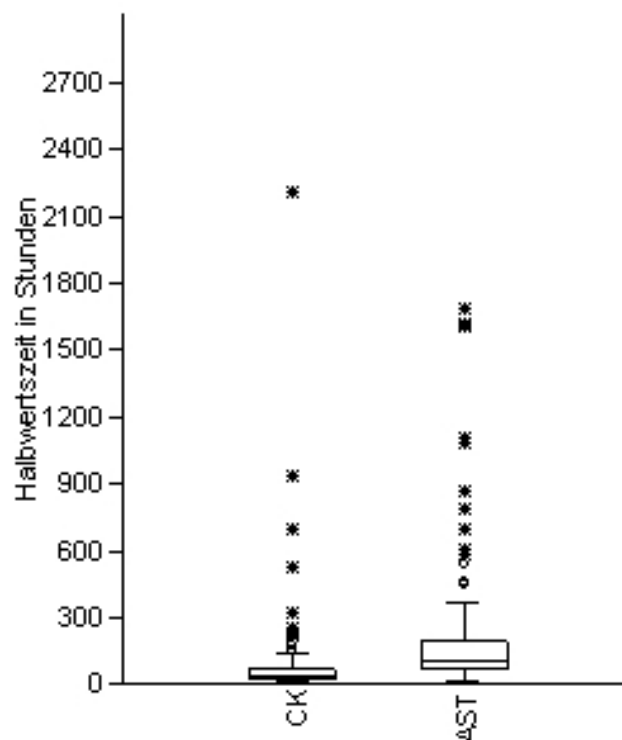


Abb. 3.2.24: Verteilung der Halbwertszeiten von CK und AST

Aus den oben dargestellten Boxplots wurde deutlich, dass die ermittelten Halbwertszeiten für CK und AST nicht normalverteilt sind. Außerdem fielen zahlreiche „Extremwerte“ auf. Die mediane Halbwertszeit der CK ($n = 164$) lag bei 37,9 Stunden, diejenige der AST ($n = 133$) bei 110,8 Stunden.

Die unterschiedliche Anzahl n von ermittelten Halbwertszeiten für CK und AST lässt sich durch Kühe erklären, bei denen lediglich zwei oder drei Serumenzymmessungen vorlagen und die Aktivität der CK abfiel während die Aktivität der AST noch anstieg. Somit war in solch einem Fall keine Halbwertszeit für die AST zu ermitteln.

Um eine Erhöhung der AST allein aufgrund einer Lebererkrankung weitestgehend ausschließen zu können, wurden in einem zweiten Schritt alle Werte von Tieren mit mittelgradig erhöhten Leberwerten, also einer GLDH von über 100 IU/l, von der Auswertung ausgeschlossen.

Bei den verbliebenen Tieren betrug der Median der Halbwertszeit der CK 36,9 Stunden ($n = 117$) und derjenige der AST 111,4 Stunden ($n = 89$).

Die entsprechenden Boxplots für die Halbwertszeiten in der Gruppe ohne Tiere mit mittelgradig erhöhten Leberenzymen sind in Abb. 3.2.25 dargestellt.

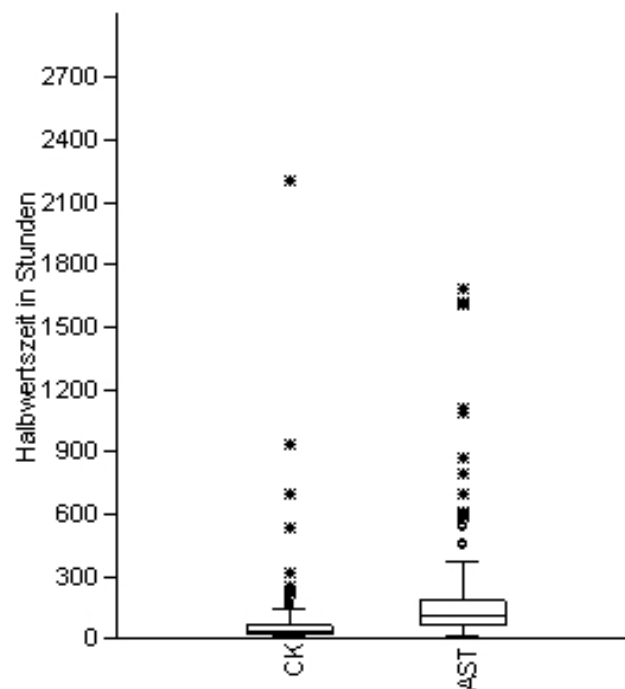


Abb. 3.2.25: Verteilung der Halbwertszeiten von CK und AST nach Ausschluss von Tieren mit mittelgradig erhöhten Leberwerten

Aus den Boxplots ist ersichtlich, dass auch in dieser Gruppe weder für die Halbwertszeiten der CK noch für diejenigen der AST eine Normalverteilung vorliegt. Desweiteren wird deutlich, dass im Vergleich zu Abb. 3.2.24 nur wenige Extremwerte weggefallen sind, diese allerdings sowohl bei den Halbwertszeiten der AST als auch bei denen der CK.

Mithilfe der retrospektiven Datenauswertung in dieser Arbeit insgesamt kürzeste ermittelte Halbwertszeit, welche vermutlich am wahrscheinlichsten den biologischen Halbwertszeiten nahe kommt, ist 7,73 Stunden für die CK und 8,65 Stunden für die AST.

3.2.2.2 Weitere Erkenntnisse aus der Datenauswertung

Die Streuung der ermittelten Halbwertszeiten für jedes Enzym war sehr groß. Die längste gefundene Halbwertszeit für die CK betrug 2203,9 Stunden, für die AST 1680,1 Stunden.

Aus den Excel-Tabellen konnte außerdem anhand der Vorzeichen der Halbwertszeitenwerte ein ungefährer Eindruck vom Verlauf der Enzymaktivitäten im Serum gewonnen werden. Dabei fiel auf dass bei 60 von 164 Kühen die AST-Aktivität noch anstieg, während die CK-Aktivität bereits abfiel. In allen von den 60 Fällen war die AST-Aktivität bei der darauffolgenden Serumenzymmessung auch abgefallen.

Die Höhe der GLDH-Aktivität diene in dieser Studie als Kriterium für das Vorliegen einer Lebererkrankung, da eine erhöhte AST-Aktivität möglichst ausschließlich auf einen Muskelschaden zurückzuführen sein sollte. Von den in die retrospektive Datenauswertung eingeschlossenen 164 Tieren wurde bei 47 Tieren eine GLDH-Aktivität von über 100 IU/l im Serum gemessen. Weitere 86 Tiere wiesen einen geringgradigen GLDH-Aktivitätsanstieg auf Werte oberhalb des Referenzbereichs aber unter 100 IU/l auf. Als innerhalb des Referenzbereichs der GLDH-Aktivität im Serum wird in der *Klinik für Wiederkäuer* in Oberschleißheim ein Wert bis zu 16 IU/l angesehen.

3.2.3 Berechnungen mithilfe des CK/AST-Quotienten

Die angestrebten Berechnungen wurden nur in eingeschränktem Maße durchgeführt. Die Gründe hierfür waren:

1. Die CK-Gehalte in den untersuchten Muskeln waren unterschiedlich.

Teilweise waren diese Unterschiede sogar statistisch signifikant.

2. Auch der CK/AST-Quotient in den untersuchten Muskeln war unterschiedlich.

Teilweise waren diese Unterschiede statistisch signifikant.

Aus den genannten Gründen schienen Berechnungen mithilfe des CK/AST-Quotienten nicht sinnvoll, wenn die „Quelle“ der Freisetzung der CK und AST, also der geschädigte Muskel nicht bekannt war.

In Fällen allerdings, in denen aufgrund der klinischen Befunde eines Patienten auf den traumatisierten Muskel geschlossen werden konnte (z.B. Adduktorentrauma, Gastrocnemiusruptur), wurden die Berechnungen mithilfe der in Kap. 3.1.3 hergeleiteten Formeln durchgeführt. Dazu wurde jeweils derjenige CK/AST-Quotient verwendet, der im betroffenen Muskel ermittelt worden ist. Im Folgenden werden beispielhaft die Berechnungen in fünf Fällen von Muskelverletzungen von Rindern dargestellt.

Die in den folgenden Formeln verwendeten Abkürzungen wurden in Kapitel 3.1.3.1 und 3.1.3.2 erklärt.

Formel zur Berechnung der initialen CK-Aktivität im Serum:

$$\ln(\text{CK}_0) = \frac{\ln(\text{CK}_a) \cdot \text{HWZ}_{\text{CK}} - \ln(Q_M) \cdot \text{HWZ}_{\text{AST}} - \ln(\text{AST}_a) \cdot \text{HWZ}_{\text{AST}}}{\text{HWZ}_{\text{CK}} - \text{HWZ}_{\text{AST}}} \quad (1)$$

Formel zur Berechnung der Zeitspanne Δt seit Beginn:

$$\Delta t = \frac{(\ln(CK_0) - \ln(CK_a)) \cdot HWZ_{CK}}{\ln(2)} \quad (2)$$

Formel zur Berechnung der zugrundegegangenen Muskelmasse:

$$\text{Muskelmasse [g]} = \frac{CK_0 \cdot (7 \% \cdot KGW)}{CK_{\text{Muskel}}} \quad (3)$$

Zur Vereinfachung werden für das Körpergewicht einer Kuh 600 kg und für das Körpergewicht eines Kalbes 50 kg angenommen. Weiterhin muss die initiale CK-Aktivität in [IU/ml] und das Körpergewicht in [g] eingesetzt werden, um die zerstörte Muskelmasse in [g] korrekt zu berechnen.

In den folgenden Beispielrechnungen werden die von SCHUHMACHER et al. (1991) ermittelten Halbwertszeiten für CK und AST verwendet:

Kuh:

$HWZ_{CK} = 8,27$ Stunden; $HWZ_{AST} = 33,48$ Stunden

Kalb:

$HWZ_{CK} = 3,46$ Stunden; $HWZ_{AST} = 9,74$ Stunden

Außerdem wird jeweils derjenige CK/AST-Quotient, der für den betroffenen Muskel ermittelt wurde, eingesetzt. Die gerundeten Werte der CK/AST-Quotienten und ihr Mittelwert sind in Tabelle 3.2.1 aufgeführt.

Tab. 3.2.1: Die gerundeten CK/AST-Quotienten der untersuchten Muskeln und ihr Mittelwert

	CK/AST-Quotient
<i>Mm. adductores</i>	60
<i>M. biceps femoris</i>	86
<i>M. extensor carpi ulnaris</i>	76
<i>M. sternomandibularis</i>	74
<i>M. gastrocnemius</i>	89
<i>M. semimembranosus</i>	137
<i>M. quadriceps femoris</i>	115
Mittelwert x	91

Zur Berechnung der zerstörten Muskelmasse werden die in Tabelle 3.2.2 aufgeführten CK-Gehalte in den untersuchten Muskeln bzw. ihr Mittelwert verwendet.

Tab. 3.2.2: Median der CK-Aktivität in den untersuchten Muskeln von Rindern

	CK-Aktivität [IU/g]
<i>Mm. adductores</i>	2540
<i>M. biceps femoris</i>	5120
<i>M. extensor carpi ulnaris</i>	3720
<i>M. sternomandibularis</i>	4400
<i>M. gastrocnemius</i>	4780
<i>M. semimembranosus</i>	6510
<i>M. quadriceps femoris</i>	5860
Mittelwert x	4700

Bsp. 1: Kuh mit Adduktorentrauma

Die Kuh hat vorberichtlich am 30. März 2001 gekalbt. Aufgrund einer ausgeprägten Hypocalcämie wurde sie am 1. April tierärztlich behandelt (u. a. Calciuminfusion). Da sich das Allgemeinbefinden in den folgenden Tagen weiter verschlechterte, wurde die Kuh in die Klinik überwiesen. Dort wurden am 3. April um 14:02 Uhr folgende Werte im Serum gemessen:

$$CK_a = 2831 \text{ IU/l}$$

$$AST_a = 461,7 \text{ IU/l}$$

In der Klinik fiel auf, dass die Kuh nur mit viel Mühe aufstehen konnte. Da sich ihr Zustand in den nächsten Tagen weiterhin verschlechterte, wurde sie euthanasiert. In der Sektion wurde ein ausgeprägtes Adduktorentrauma festgestellt.

Die initiale CK-Aktivität beträgt:

$$\ln(CK_0) = \frac{\ln(2831 \text{ IU/l}) \cdot 8,72 \text{ h} - \ln(60) \cdot 33,48 \text{ h} - \ln(461,7 \text{ IU/l}) \cdot 33,48 \text{ h}}{8,27 \text{ h} - 33,48 \text{ h}} = 10,97 \text{ IU/l}$$

$$CK_0 = 58.165 \text{ IU/l}$$

Die Zeitspanne Δt beträgt:

$$\Delta t = \frac{(\ln(58.165 \text{ IU/l}) - \ln(2831 \text{ IU/l})) \cdot 8,27 \text{ h}}{\ln(2)} \approx 36 \text{ Stunden}$$

Bei dem Trauma zerstörte Muskelmasse:

$$\text{Muskelmasse} = \frac{58,17 \text{ IU/ml} \cdot (0,07 \cdot 600.000 \text{ g})}{2.540 \text{ IU/g}} \approx 962 \text{ g}$$

Das Trauma müsste sich nach diesen Berechnungen also am 2. April etwa um 2:00 Uhr nachts ereignet haben. Dabei wurden 962 g Muskelmasse zerstört.

Bsp. 2: Kuh mit Ruptur des *M. gastrocnemius*

Vorberichtlich ist die Kuh am 16. September 2004 im Laufstall gestürzt und hat in der Folge das rechte Hinterbein kaum mehr belastet.

Das Tier wurde am 18. September in die Klinik eingeliefert. Dort fiel eine Steilstellung im Fesselgelenk und ein Absinken des Tarsus des betroffenen Hinterbeins auf, so dass der Verdacht auf eine Gastrocnemiusruptur geäußert wurde.

In einer am 18. September um 13:13 Uhr gezogenen Serumprobe wurden folgende Werte gemessen:

$$\text{CK}_a = 1.454 \text{ IU/l}$$

$$\text{AST}_a = 230,8 \text{ IU/l}$$

Die initiale CK-Aktivität beträgt:

$$\ln(\text{CK}_0) = \frac{\ln(1.454 \text{ IU/l}) \cdot 8,27 \text{ h} - \ln(89) \cdot 33,48 \text{ h} - \ln(230,8 \text{ IU/l}) \cdot 33,48 \text{ h}}{8,27 \text{ h} - 33,48 \text{ h}} = 10,79 \text{ IU/l}$$

$$\text{CK}_0 = 48.601 \text{ IU/l}$$

Die Zeitspanne Δt beträgt:

$$\Delta t = \frac{(\ln(48.601 \text{ IU/l}) - \ln(1.454 \text{ IU/l})) \cdot 8,27 \text{ h}}{\ln(2)} \approx 42 \text{ Stunden}$$

Bei dem Trauma zerstörte Muskelmasse:

$$\text{Muskelmasse} = \frac{48,60 \text{ IU/ml} \cdot (0,07 \cdot 600.000 \text{ g})}{4.780 \text{ IU/g}} \approx 427 \text{ g}$$

Nach diesen Berechnungen müsste sich der Sturz also am 16. September etwa um 19:00 Uhr ereignet haben. Dabei sind 427 g Muskelmasse zugrunde gegangen.

Bsp. 3: Kuh mit massivem Halstrauma

Die Kuh hat am 8. Februar gekalbt, frisst seitdem schlecht und kann nicht mehr allein aufstehen. Der Landwirt versuchte deshalb mehrmals sie mit dem Frontlader aufzuheben.

Bei der Untersuchung in der Klinik fielen zahlreiche Abschürfungen und Hämatome beidseits im Bereich des Halses und cranial der Schulter auf. In den am 12. Februar um 14:43 Uhr gezogenen Serumproben wurden folgende Werte gemessen:

$$\text{CK}_a = 22.308 \text{ IU/l}$$

$$\text{AST}_a = 1.096 \text{ IU/l}$$

Da die Kuh trotz Behandlung weiter festlag, wurde sie am 13. Februar eingeschläfert. In der Sektion wurde ein massives Trauma mit Hämatomen und ausgedehnten Muskelnekrosen im Bereich des Halses festgestellt.

Für die folgenden Berechnungen wird der im *M. sternomandibularis* ermittelte CK-Gehalt und CK/AST-Quotient verwendet, da auch dieser Muskel in das Trauma miteingeschlossen war.

Die initiale CK-Aktivität beträgt:

$$\ln(\text{CK}_0) = \frac{\ln(22.308 \text{ IU/l}) \cdot 8,27 \text{ h} - \ln(74) \cdot 33,48 \text{ h} - \ln(1.096 \text{ IU/l}) \cdot 33,48 \text{ h}}{8,27 \text{ h} - 33,48 \text{ h}} = 11,73 \text{ IU/l}$$

$$\text{CK}_0 = 124.552 \text{ IU/l}$$

Die Zeitspanne Δt beträgt:

$$\Delta t = \frac{(\ln(124.552 \text{ IU/l}) - \ln(22.308 \text{ IU/l})) \cdot 8,27 \text{ h}}{\ln(2)} \approx 21 \text{ Stunden}$$

Bei dem Trauma zerstörte Muskelmasse:

$$\text{Muskelmasse} = \frac{124,55 \text{ IU/ml} \cdot (0,07 \cdot 600.000 \text{ g})}{4400 \text{ IU/g}} \approx 1.190 \text{ g}$$

Nach diesen Berechnungen müsste sich das Trauma am 11. Februar etwa um 18 Uhr ereignet haben. Dabei wurden 1.190 g Muskulatur zerstört.

Bsp. 4: Kalb mit Unterarmfraktur

Das Kalb wurde in der Nacht vom 15. auf den 16. Februar 2011 im Laufstall geboren und vom Landwirt am Morgen festliegend aufgefunden. Dabei fiel eine vermehrte Beweglichkeit im Bereich des linken Unterarms auf. In der Klinik wurde eine Fraktur beider Unterarmknochen diagnostiziert.

In der am 16. Februar um 13:21 Uhr gezogenen Serumprobe wurden folgende Werte gemessen:

$$CK_a = 3.368 \text{ IU/l}$$

$$AST_a = 125,9 \text{ IU/l}$$

Für die folgenden Berechnungen wird der im *M. extensor carpi ulnaris* ermittelte CK-Gehalt und CK/AST-Quotient verwendet. Da dieser Muskel den Unterarmknochen anliegt, wird er bei einer Fraktur durch scharfkantige Bruchenden und Knochensplinter sehr wahrscheinlich mitgeschädigt.

Die initiale CK-Aktivität beträgt:

$$\ln(CK_0) = \frac{\ln(3.368 \text{ IU/l}) \cdot 3,46 \text{ h} - \ln(76) \cdot 9,74 \text{ h} - \ln(125,9 \text{ IU/l}) \cdot 9,74 \text{ h}}{3,46 \text{ h} - 9,74 \text{ h}} = 9,74 \text{ IU/l}$$

$$CK_0 = 17.009 \text{ IU/l}$$

Die Zeitspanne Δt beträgt:

$$\Delta t = \frac{(\ln(17.009 \text{ IU/l}) - \ln(3.368 \text{ IU/l})) \cdot 3,46 \text{ h}}{\ln(2)} \approx 8 \text{ Stunden}$$

Bei dem Trauma zerstörte Muskelmasse:

$$\text{Muskelmasse} = \frac{17,0 \text{ IU/ml} \cdot (0,07 \cdot 50.000 \text{ g})}{3720 \text{ IU/g}} \approx 16 \text{ g}$$

Nach diesen Berechnungen müsste sich das Trauma, zum Beispiel der Tritt einer Kuh im Laufstall, am 16. Februar etwa um 5 Uhr nachts ereignet haben. Durch die Unterarmfraktur wurden 16 g der umliegenden Muskulatur mitgeschädigt.

Bsp. 5: Kalb mit Muskelkrämpfen

Das Kalb wurde am Morgen des 10. März 2011 krampfend in Seitenlage in die Klinik eingeliefert. Die Landwirtin hatte es festliegend und „steif“ in der Kälberbox gefunden. In der Klinik wurde eine ausgeprägte Hypoglykämie festgestellt und außerdem folgende Werte in einer um 8:42 Uhr gezogenen Serumprobe gemessen:

$$\text{CK}_a = 11.528 \text{ IU/l}$$

$$\text{AST}_a = 414,4 \text{ IU/l}$$

Für die folgenden Berechnungen wird der Mittelwert der CK-Gehalte und CK/AST-Quotienten der untersuchten Muskeln verwendet, da das Tier generalisierte Muskelkrämpfe zeigte.

Die initiale CK-Aktivität beträgt:

$$\ln(\text{CK}_0) = \frac{\ln(11.528 \text{ IU/l}) \cdot 3,46 \text{ h} - \ln(91) \cdot 9,74 \text{ h} - \ln(414,4 \text{ IU/l}) \cdot 9,74 \text{ h}}{3,46 \text{ h} - 9,74 \text{ h}} = 11,19 \text{ IU/l}$$

$$\text{CK}_0 = 72.451 \text{ IU/l}$$

Die Zeitspanne Δt beträgt:

$$\Delta t = \frac{(\ln(72.451 \text{ IU/l}) - \ln(11.528 \text{ IU/l})) \cdot 3,46 \text{ h}}{\ln(2)} \approx 9 \text{ Stunden}$$

Bei dem Trauma zerstörte Muskelmasse:

$$\text{Muskelmasse} = \frac{72,45 \text{ IU/ml} \cdot (0,07 \cdot 50.000 \text{ g})}{4700 \text{ IU/g}} \approx 43 \text{ g}$$

Nach diesen Berechnungen müssten die Muskelkrämpfe etwa um Mitternacht von 9. auf 10. März begonnen haben. Dabei sind 43 g Muskelmasse zugrunde gegangen.

4. Diskussion

4.1 Bestimmung der CK- und AST-Gehalte im Skelettmuskel

Im ersten Teil dieser Arbeit wurden Muskelproben von Patienten der Klinik für Wiederkäuer genommen. Sicherlich ist es stets problematisch, sogenannte „Normalwerte“ bei kranken Tieren zu bestimmen, dennoch wurden in der gesichteten Literatur keine Hinweise darauf gefunden, dass der Gehalt von CK und AST im Muskel durch eine Erkrankung anderer Organe oder Organsysteme verändert sein könnte.

Das Auffinden der ausgewählten Muskeln zur Entnahme von Proben war bereits nach wenigen „Übungstieren“ ohne Schwierigkeiten möglich, so dass sichergestellt werden konnte, dass die entnommene Probe repräsentativ für den jeweiligen Muskel war.

Die Gewinnung des Muskelsafts aus den Muskelproben erfolgte angelehnt an die Methodik von FRAHM et al. (1977), welche in Kapitel 3.1.1.7 beschrieben wurde. Die Unterschiede in den ermittelten CK- und AST-Gehalten im *M. sternomandibularis* in der Studie von FRAHM et al. (1977) und in den eigenen Untersuchungen könnten auf die Abwandlung der Methodik von FRAHM et al. (1977) zurückzuführen sein. Während die Kühe in der Studie von FRAHM et al. (1977) beispielsweise geschlachtet und vor der Probenentnahme entblutet wurden, fand bei den Tiere in der vorliegenden Arbeit kein Blutentzug nach der Euthanasie statt. Da Erythrozyten zwar keine CK enthalten aber doch einen gewissen Gehalt an AST haben (WEISS, 1976), könnte der Enzymgehalt in nicht entbluteten Muskeln verändert sein. Allerdings wäre folglich ein höherer AST-Gehalt in den eigenen Untersuchungen zu erwarten gewesen, dieser war aber nur annähernd halb so hoch wie bei FRAHM et al. (1977). Somit kann angenommen werden, dass der Einfluss des Blutentzugs auf den Muskelenzymgehalt nicht sehr groß ist.

Desweiteren wurden die Muskelproben bei FRAHM et al. (1977) sofort nach der Entnahme bei -196°C in Flüssigstickstoff eingefroren, während sie in der vorliegenden Studie im Gefrierschrank bei -80°C bis zur weiteren Verarbeitung aufbewahrt wurden. Die unterschiedlichen Lagerungstemperaturen könnten also ebenfalls einen Einfluss auf die gemessenen Enzymgehalte gehabt haben.

Auch die Methodik von FRAHM et al. (1977) zur Gewinnung des Muskelsafts wurde für die eigenen Untersuchungen modifiziert. So wurden die Muskelproben nicht nur mit einem Skalpell in Scheiben geschnitten und anschließend mithilfe eines Ultraturrax homogeniert wie bei FRAHM et al. (1977), sondern zusätzlich in einem Mixer zerkleinert. Durch die zusätzliche Zerkleinerung könnten noch mehr Muskelfasern zerstört und damit noch mehr Enzyme freigesetzt worden sein. Der höhere CK-Gehalt in den eigenen Untersuchungen wäre dadurch erklärbar.

Außerdem erfolgte die Ultrazentrifugation des Homogenats nicht wie bei FRAHM et al. (1977) beschrieben bei 145.000 g, sondern bei 16.000 g. Die Zentrifugationszeit und die eingestellte Temperatur waren in beiden Arbeiten identisch. Es stellt sich somit die Frage, welche Zentrifugationsgeschwindigkeit besser geeignet ist, um die CK- und AST-Moleküle aus dem Muskelsaft in den klaren Überstand zu „befördern“. Da beide Enzyme ein vergleichsweise hohes Molekulargewicht von etwa 80.000 – 90.000 Da aufweisen, könnte eine sehr hohe Zentrifugationsgeschwindigkeit wie bei FRAHM et al. (1977) bewirken, dass sie „weiter außen“, also näher am Boden des Reagenzglases, zu liegen kommen und dadurch eine geringere Enzymaktivität im Überstand gemessen wird.

Der gewonnene Muskelsaft wurde bei FRAHM et al. (1977) bei -20°C tiefgefroren, wogegen er in dieser Studie sofort und in frischem Zustand auf seinen Gehalt an CK und AST untersucht wurde. Speziell dieser Umstand könnte die niedrigeren CK- aber höheren AST-Aktivitäten im M. sternomandibularis bei FRAHM et al. (1977) erklären. Der „Lagerungsversuch“ zu Beginn der eigenen praktischen Arbeiten zeigte nämlich, dass die CK-Aktivität im Muskelsaft nach 24-stündiger Aufbewahrung der Muskelsaftprobe bei -25°C bis zu 20 % niedriger war als am Vortag. Auch die AST-Aktivität war nach Lagerung im Gefrierschrank stark verändert. So konnten in den jeweils gleichen Proben teilweise bis zu 27 % höhere, teilweise bis zu 49 % niedrigere Werte gemessen werden als am Tag zuvor. Die niedrigeren Messwerte am zweiten Tag können durch einen Abfall der Enzymaktivitäten aufgrund der

Lagerung erklärt werden. Über die Gründe für die höheren gemessenen AST-Aktivitäten lassen sich allerdings nur Vermutungen anstellen. Die IFCC-Methode wurde zur Bestimmung der CK- und AST-Aktivitäten im Blutserum entwickelt. Eine Störung der Bestimmungsmethode durch andere unbekannte Enzyme oder Stoffwechselprodukte, welche zur Messung einer erhöhten AST-Aktivität führen könnte, ist also durchaus denkbar.

Weiterhin erfolgte die Bestimmung der Aktivitäten der CK und AST im Muskelsaft zwar mit unterschiedlichen Enzymanalysegeräten, jedoch in beiden Studien nach der von der IFCC empfohlenen Methodik bei 37°C, so dass aufgrund dessen keine stark abweichenden Ergebnisse zu erwarten waren.

Die gemessenen CK- und AST-Aktivitäten waren in fast allen Muskeln nicht normalverteilt. Lediglich bei Betrachtung des CK-Gehalts im *M. biceps femoris* konnte annähernd eine Normalverteilung festgestellt werden. Bis auf die CK-Gehalte im *M. sternomandibularis* und im *M. semimembranosus*, welche linksschief verteilt waren, wiesen die Enzymgehalte in allen anderen untersuchten Muskeln eine rechtsschiefe Verteilung auf. Bei biologischen Größen wie der Enzymaktivität ist dies nicht ungewöhnlich, da stets eine natürliche untere Grenze, nämlich der Wert Null existiert, die nicht unterschritten werden kann (WEIß, 1999). Außerdem ist bei biologischen Parametern auch oft eine sehr breite Verteilung bzw. Streuung festzustellen, wie sie auch in dieser Arbeit bei den Werten für die CK-Aktivität in den *Mm. adductores* und im *M. biceps femoris* beobachtet wurde.

In den Proben aus den *Mm. adductores* wurden unerwartet häufig sehr niedrige CK-Aktivitäten gemessen. Das Minimum lag bei 38,2 IU/g. Der Grund für die verschiedenen CK-Gehalte in den untersuchten Muskeln könnte in der unterschiedlichen Muskelfaserzusammensetzung liegen.

Ein Muskel kann aus bis zu 100.000 einzelnen Muskelfasern bestehen und dabei verschiedene Muskelfasertypen enthalten (KOLB, 1989). KIRCHOFER et al. (2002) stellten fest, dass die *Mm. adductores* des Rindes im Mittel 42,5 % α -weiße, 29,3 % β -rote und 28,2 % α -rote Fasern enthalten und klassifizierte sie deshalb als „weiße“ Muskeln. Die α -roten Fasern bei KIRCHOFER et al. (2002) entsprechen in histologischer und funktioneller Hinsicht den in Kapitel 2.2 beschriebenen

intermediären Fasern. Dass die Creatinkinase intrazellulär zu 90 % im Sarkoplasma lokalisiert ist und dass weiße Muskelfasern deutlich weniger Sarkoplasma enthalten als rote Fasern (SCHEUNERT und TRAUTMANN, 1987), könnte den geringeren CK-Gehalt in den *Mm. adductores* erklären.

Andererseits klassifizieren KIRCHOFER et al. (2002) aber auch den *M. biceps femoris* und den *M. semimembranosus* als „weiße“ Muskeln. In den eigenen Untersuchungen fielen diese aber gerade durch sehr hohe CK-Gehalte auf.

Die CK-Aktivität in einem Muskel könnte allerdings auch in Zusammenhang stehen mit der Funktion des Muskels bzw. seiner Fasern. Nach KELLER (1974) ist der CK-Gehalt in einem Muskel proportional zum Creatinphosphatverbrauch bei einer speziellen Kontraktion. Vor allem in den „fast twitch fatiguable“-Fasern ist dieser hoch, da sie sich sehr schnell kontrahieren. So finden ADHIHETTY et al. (2003) und WYSS und KADDURAH-DAOUK (2000) eine höhere Creatinphosphatkonzentration in weißen als in roten Muskelfasern. Folglich müsste auch die CK-Konzentration in Muskeln mit überwiegend weißen Fasern höher sein, als in „roten“ Muskeln.

Das Problem dieser Hypothesen ist, dass es keine „roten“ oder „weißen“ Muskeln im eigentlichen Sinne zu geben scheint, sondern dass sich – wie schon von zahlreichen Autoren beschrieben (KELLER, 1974; BURKE, 1975; KIRCHOFER et al., 2002) – nahezu jeder Muskel aus mindestens drei verschiedenen Fasertypen (weiß, rot und intermediär) zusammensetzt. Vor allem in der Studie von KIRCHOFER et al. (2002) wird außerdem deutlich, dass sich die prozentualen Anteile der drei Muskelfasertypen in fast allen untersuchten Muskeln nur geringfügig unterscheiden. So weist von den sieben als „weiß“ klassifizierten Muskeln nur der *M. vastus intermedius* mit 61 % einen überwiegenden Anteil an weißen Fasern auf. Bei den anderen sechs Muskeln wurde lediglich ein Anteil weißer Fasern zwischen 41,7 – 49,7 % festgestellt.

Somit ist es schwierig, von der Muskelfaserzusammensetzung auf den CK-Gehalt eines Muskels zu schließen. Wie schon von KELLER (1974) gefordert, wären dazu quantitative Studien an einzelnen Muskelfasern nötig.

Weiterhin wäre aber auch denkbar, dass die gemessenen CK-Gehalte eine Momentaufnahme im Stoffwechsel der Muskelzellen darstellen. Wie jedes andere

Protein wird auch die Creatinkinase bei Bedarf nach Transkription des entsprechenden Genabschnitts durch Translation an Ribosomen synthetisiert. Hat ein Muskel intensive Arbeit geleistet, so ist sein Reservoir an Creatinphosphat erst einmal erschöpft. Es ist leicht vorstellbar, dass zur „Auffüllung“ des intrazellulären Creatinphosphatspeichers auch die Synthese neuer Creatinkinase-Enzyme nötig ist. Folglich müsste ein Muskel, welcher sich vor kurzer Zeit stark kontrahiert hat, einen höheren CK-Gehalt aufweisen, als ein Muskel, der in Ruhe war.

Die großen Muskelpakete, welche durch ihre Kontraktion die Knochen der Vorder- und Hintergliedmaßen bewegen, sind zum Beispiel beim Aufstehen, Niederlegen und Gehen ständig aktiv. Zu ihnen gehören unter anderem der *M. biceps femoris*, der *M. gastrocnemius*, der *M. semimembranosus* und der *M. quadriceps femoris*. Es wäre also vorstellbar, dass die in den entsprechenden Muskelproben gemessene CK-Aktivität eher hoch ist, wenn sich die Kuh einige Zeit vor der Euthanasie vermehrt bewegt hat.

Zur Prüfung dieser Hypothese wären allerdings Vergleichsstudien nötig, in denen der Muskelenzymgehalt in Ruhe und nach intensiver Bewegung ermittelt wird.

Abweichend von den CK-Gehalten, wurden in der vorliegenden Arbeit keine statistisch signifikanten Unterschiede im AST-Gehalt der sieben untersuchten Muskeln gefunden. Die Aspartat-Aminotransferase ist ein ubiquitäres Enzym (KELLER, 1971a). In Leber-, Herzmuskel-, Nieren-, Milz- und auch Skelettmuskelzellen katalysiert sie die Synthese von Aminosäuren wie Aspartat durch die Übertragung einer Aminogruppe. Ihre Produkte sind im Metabolismus von verschiedensten Zellen von Bedeutung. Die Aktivität der AST steht also nicht in direktem Zusammenhang mit der speziellen Funktion der Muskelzelle, der Kontraktion. Somit ist es erklärbar, dass in allen untersuchten Muskeln ähnliche mediane AST-Gehalte gemessen wurden, wogegen die medianen CK-Gehalte teilweise stark variierten.

4.2 Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts vom Alter

Die statistische Analyse ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede im CK- oder AST-Gehalt weder in den *Mm. adductores* noch im *M. biceps femoris* zwischen den drei Altersgruppen. Der Muskelenzymgehalt scheint also nicht vom Alter abhängig zu sein.

Bei der Erstellung von Altersgruppen stellt sich stets die Frage, wo die Grenzen zwischen den einzelnen Gruppen gezogen werden sollen. In dieser Arbeit wurden Kalbinnen und Erstkalbskühe in die erste Gruppe eingeordnet (unter 2,5 Jahre), die zweite Gruppe umfasste Kühe mit einem Alter von 2,6 bis sechs Jahren und in die dritte Gruppe fielen „ältere“ Tiere mit einem Alter von über sechs Jahren. Eine solche Einteilung ist natürlich bis zu einem gewissen Grad beliebig, daher sollten die Ergebnisse stets kritisch betrachtet werden.

4.3 Abhängigkeit des Muskelenzymgehalts von der Rasse

Der signifikant höhere CK-Gehalt der Adduktoren von Braunviehkühen gegenüber dem von Fleckviehkühen könnte auf einer unterschiedlichen Muskelkonstitution der beiden Rinderrassen beruhen. Es existieren zahlreiche Studien, in denen die Muskeln verschiedener Rinderrassen in Hinblick auf ihre Fleischqualität untersucht wurden. So stellten zum Beispiel DUFEY und CHAMBAZ (2006) fest, dass sich der *M. longissimus thoracis* verschiedener Rinderrassen unter anderem in seinem Anteil an intramuskulärem Fett und Kollagen, seiner Sarkomerlänge und seiner Zartheit unterscheidet. Es wäre also auch vorstellbar, dass es genetisch bedingte Unterschiede im CK-Gehalt der Muskeln von Braunvieh- und Fleckviehkühen gibt.

Die Creatinkinase katalysiert die Synthese von Creatinphosphat, welches gerade in den „fast twitch fatiguable“-Muskelfasern in den ersten Sekunden der sehr schnellen Kontraktion die einzige Energiequelle darstellt (BERG et al., 2003a). Ein vergleichsweise geringer CK-Gehalt der Adduktoren bei Fleckviehkühen könnte somit auch eine Prädisposition für das „Versagen“ dieser Muskeln beim Vorgang des

Ausgrätschens darstellen. Natürlich sind in diesem Zusammenhang aber auch andere Faktoren, wie ein subklinischer Calciummangel im peripartalen Zeitraum, ein glatter Untergrund, hohes Körpergewicht oder schmerzhaftes Klauenerkrankungen, zu nennen, welche zu unsicheren Bewegungen führen und somit direkt die Gefahr des Ausrutschens erhöhen (STEINER, 2002).

Aufgrund der lokalen Gegebenheiten stellt das Fleckvieh die im Patientengut der *Klinik für Wiederkäuer* am häufigsten vertretene Rinderrasse dar. Somit gehörte der überwiegende Teil der in dieser Studie beprobten Kühe ebenso der Rasse Fleckvieh an, während nur sechs Kühe der Rasse Braunvieh beprobt werden konnten. Dies stellt eine sehr geringe Stichprobenzahl dar, so dass auch die oben beschriebenen Ergebnisse des Rassevergleichs kritisch betrachtet werden sollten.

Zur Überprüfung der Ergebnisse sind weiterführende Untersuchungen des CK-Gehalts in den Muskeln verschiedener Rinderrassen mit größeren Tierzahlen in jeder Gruppe nötig.

Sollten diese Untersuchungen die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen, so könnte dies auch den insgesamt niedrigen CK-Gehalt in den *Mm. adductores* im Vergleich zu den sechs anderen untersuchten Muskeln erklären, da der überwiegende Teil der in dieser Studie beprobten Kühe der Rasse Fleckvieh angehörte.

4.4 Der Quotient aus CK- und AST-Aktivität

Die in dieser Arbeit ermittelten Werte des CK/AST-Quotienten waren nicht normalverteilt, sondern zeigten in allen sieben untersuchten Muskeln eine rechtsschiefe Verteilung. Dies war soweit zu erwarten, da schon die CK- und AST-Aktivitäten, aus denen die Quotienten errechnet wurden, in fast allen Muskeln nicht normalverteilt waren.

Der niedrige CK/AST-Quotient in den *Mm. adductores* lässt sich dadurch erklären, dass in diesen Muskeln auch ein vergleichsweise niedriger CK-Gehalt ermittelt

wurde, wogegen sich der AST-Gehalt nicht stark von demjenigen in den anderen Muskeln unterschied. Doch auch die CK/AST-Quotienten der anderen untersuchten Muskeln variierten zum Teil stark, wenn auch nicht statistisch signifikant.

Somit muss auf den Ergebnissen dieser Studie basierend der Annahme, dass der CK/AST-Quotient grundsätzlich in allen Skelettmuskeln gleich ist, widersprochen werden.

Ist der CK/AST-Quotient aber von Muskel zu Muskel verschieden, so werden die beiden Muskelenzyme je nach geschädigtem Muskel auch in einem unterschiedlichen Verhältnis ins Blut freigesetzt. Dies bedeutet wiederum, dass die in dieser Arbeit angestrebte Rückrechnung auf den Zeitpunkt, an dem das Muskeltrauma eingetreten ist, nicht möglich ist, sofern der geschädigte Muskel nicht bekannt ist.

Es gibt einige wenige Fälle von Muskelverletzungen bei Rindern, in denen die klinische Symptomatik pathognomonisch ist für den geschädigten Muskel.

So werden zum Beispiel Kühe, welche sich durch seitliches Ausgrätschen der Hintergliedmaßen ein Adduktorentrauma zugezogen haben, typischerweise plötzlich festliegend mit ein- oder beidseitig schräg nach vorn gestreckten Hinterbeinen aufgefunden (STEINER, 2002). Genauso lässt auch die Gliedmaßenhaltung nach einer Gastrocnemiusruptur, also ein Absinken des Fersenhöckers mit Beugung des Tarsus und Steilstellung der Fessel (STEINER, 2002) meist eindeutig auf den geschädigten Muskel schließen. Auch bei tiefen Schnitt- oder Risswunden mit Beteiligung der Muskeln in der betroffenen Körperregion ist schnell klar, welche der hauptsächlich geschädigten Muskeln sind. In den genannten Fällen ist die Berechnung der Zeitspanne, die seit dem Trauma mindestens verstrichen sein muss, und der Muskelmasse, welche im Zusammenhang damit zerstört wurde, möglich. Allerdings muss dazu derjenige CK/AST-Quotient verwendet werden, der in dem betroffenen Muskel ermittelt wurde.

Die Verwendung eines „Durchschnittsquotienten“, welcher sich als Mittelwert aus den CK/AST-Quotienten der sieben untersuchten Muskeln berechnet, ist nur sinnvoll, wenn es sich um eine generalisierte Myopathie handelt, von der alle Skelettmuskeln

in gleichem Maße betroffen sind. Ein Beispiel hierfür wären generalisierte Muskelkrämpfe, wie sie bei Meningitis, Tetanus oder Hypoglykämie (beim Kalb) auftreten können. In einem solchen Fall könnte der „Durchschnittsquotient“ annähernd dem Verhältnis entsprechen, in dem CK und AST im Blut vorliegen, nachdem sie aus verschiedensten Muskeln freigesetzt wurden.

In Kapitel 3.2.3 wurden beispielhaft fünf Fälle von Muskelverletzungen bei Rindern beschrieben und die angestrebten Berechnungen mithilfe des CK/AST-Quotienten durchgeführt. Dabei zeigte sich, dass der CK/AST-Quotient in der Diagnostik von Muskelschäden durchaus hilfreich sein kann. Der errechnete Zeitpunkt des Traumas stimmte nämlich in allen Fällen recht gut mit dem aufgrund des Vorberichts erwarteten Zeitraum überein.

Die Suche nach Fällen von Kühen mit erhöhten Muskelwerten, bei denen der für das Trauma infrage kommende Zeitraum zum Beispiel anhand des Vorberichts eng eingegrenzt und die Richtigkeit der Berechnungen daher beurteilt werden konnte, gestaltete sich oft schwierig. Aus diesem Grund wurde im Laufe der Arbeit damit begonnen, auch Kälber mit Muskelverletzungen in die Berechnungen einzuschließen. Gerade neugeborene Kälber, welche bei oder kurz nach der Geburt Frakturen erlitten, schienen sehr geeignet, da der Zeitpunkt des Traumas – also die Geburt – meist sehr genau bekannt war. In der gesichteten Literatur konnten leider keine Untersuchungen zum Muskelenzymgehalt bei Kälbern gefunden werden. Dennoch ist es wahrscheinlich, dass sich der in dieser Studie bei Kühen ermittelte CK- und AST-Gehalt der Skelettmuskulatur von demjenigen bei Kälbern unterscheidet. Schließlich ändern sich im Laufe des Wachstums sowohl Länge und Durchmesser der einzelnen Muskelfasern (KOLB, 1989), als auch die im Muskel hauptsächlich auftretenden CK-Isoenzyme (EPPENBERGER et al., 1964). Trotzdem stimmten die bei Kälbern mit Muskelverletzungen berechneten Zeitspannen überraschend gut mit dem jeweils erwarteten Zeitpunkt des Traumas überein. Vermutlich sind die Unterschiede im Muskelenzymgehalt zwischen jungen und adulten Tieren also doch nicht so groß wie erwartet.

Da in dieser Arbeit retrospektiv nur wenige Fälle von Muskelverletzungen bei Kühen gefunden werden konnten, bei denen eine Überprüfung der Richtigkeit der

durchgeführten Berechnungen möglich war, sind weiterführende Studien nötig, die diesen Sachverhalt klären. Daher sind Untersuchungen nach experimentell gesetzten Muskelschäden ähnlich der von KELLER et al. (1971) zu fordern, um die Aussagekraft des in dieser Arbeit ermittelten CK/AST-Quotienten im Muskel von Rindern hinsichtlich der Zeit, die ein Muskeltrauma bereits zurückliegt, zu bestätigen.

Die Zeit berechnen zu können, die ein Muskeltrauma bereits zurückliegt, ist hilfreich. Von noch größerer Relevanz ist es in der täglichen tierärztlichen Praxis aber, eine prognostische Einschätzung eines Patienten vornehmen zu können. Wenn mit dem CK/AST-Quotienten also der Zeitpunkt des Traumas berechnet werden kann, so ist es in der Folge möglich, mithilfe der von verschiedenen Autoren ermittelten „kritischen Enzymwerte“ (Kap. 2.4) die Prognose der Kuh einzuschätzen.

Die in Kapitel 3.2.3 dargestellten Berechnungen führten zu dem Ergebnis, dass das Muskeltrauma bei der Kuh mit Ruptur des M. gastrocnemius (Beispiel 2) zum Zeitpunkt der Blutentnahme bereits zwei Tage zurücklag. CLARK et al. (1987) ermittelten als kritischen Wert für die CK am Tag 2 einen Wert von 16.300 IU/l. War dieser Wert überschritten, so lag die Wahrscheinlichkeit, dass die Kuh überlebte bei 5 %. Bei der Kuh aus Beispiel 2 wurde am zweiten Tag eine wesentlich niedrigere CK-Aktivität von 1.454 IU/l gemessen. Außerdem lag auch die AST-Aktivität von 230,8 IU/l deutlich unter dem von CLARK et al. (1987) ermittelten kritischen Wert von 890 IU/l. Aus der Krankenakte ging hervor, dass die Kuh überlebte und nach ca. 14 Tagen Klinikaufenthalt als geheilt entlassen werden konnte.

Die Kuh mit Halstrauma (Beispiel 3) lag nach den durchgeführten Berechnungen zum Zeitpunkt der Blutentnahme seit einem Tag fest. Die im Serum gemessene CK-Aktivität von 22.308 IU/l war höher als der von CLARK et al. (1987) bestimmte kritische Wert von 18.600 IU/l am ersten Tag. Auch die AST-Aktivität (1.069 IU/l) überstieg den kritischen Wert von 890 IU/l. Diese Kuh musste eingeschläfert werden, das sich ihr Zustand in der Klinik weiter verschlechterte.

In dem ersten Beispiel einer Kuh mit Adduktorentrauma führten die Berechnungen zu dem Ergebnis, dass diese Kuh ebenfalls seit einem Tag festlag. Trotz eines im Serum gemessenen CK-Werts von 2831 IU/l und AST-Werts von 461,7 IU/l, welche deutlich niedriger waren als die von CLARK et al. (1987) ermittelten kritischen Werte, musste die Kuh eingeschläfert werden. Es sollte allerdings erwähnt werden, dass

dieses Tier noch andere Probleme (Sohlengeschwüre an mehreren Klauen, umfangreiche Dekubitalstellen) hatte und in der Klinik zusätzlich eine Labmagenverlagerung entwickelte, so dass mit dem Besitzer aus wirtschaftlichen und tierschutzrechtlichen Gründen die Euthanasie vereinbart wurde.

Diese Beispiele zeigen, dass der CK/AST-Quotient durchaus ein hilfreicher Parameter in der Diagnostik von Muskelverletzungen bei Rindern sein kann und außerdem zur Einschätzung der Prognose eines Patienten beitragen kann.

4.5 Ermittlung der natürlichen Halbwertszeiten von CK und AST

Die Zuordnung des Zeitpunkts der Serumprobenentnahme zu den gemessenen CK- und AST-Aktivitäten anhand der Ausdrücke des Blutgasgeräts (s. Kapitel 3.1.2.2) gelang in allen ausgewerteten Fällen zuverlässig. Die Möglichkeit, dass eine Blutgasmessung in Ausnahmefällen doch mit etwas zeitlicher Verzögerung zur Blutentnahme durchgeführt worden sein könnte, konnte natürlich nicht vollständig ausgeschlossen werden. Da es sich dabei aber mit großer Wahrscheinlichkeit um Verzögerungen im Bereich von einigen Minuten gehandelt haben sollte und die Halbwertszeiten der hier untersuchten Enzyme im Bereich von mehreren Stunden liegen, wurde dieser Faktor als vernachlässigbar eingeschätzt. Somit konnten stets die korrekten Zeitintervalle zwischen zwei Blutprobenentnahmen ermittelt und daraus die jeweiligen Halbwertszeiten von CK und AST berechnet werden.

Die Mediane der Halbwertszeiten von CK (37,85 Stunden) und von AST (110,81 Stunden) waren im Vergleich zu den von anderen Autoren ermittelten Halbwertszeiten (BOGIN und SOMMER, 1976; SCHUHMACHER et al., 1991; BRAUN et al., 1995) deutlich länger. Die kürzeste für CK berechnete Halbwertszeit war 7,73 Stunden bei einer Kuh mit Uterusruptur. Dies lässt sich in etwa mit dem von SCHUHMACHER et al. (1991) ermittelten Wert für Färsen von 8,27 Stunden und dem von LEFEBVRE et al. (1994) ermittelten Wert von 8,67 Stunden vergleichen. Die kürzeste in dieser Studie gefundene Halbwertszeit für die AST betrug 8,65 Stunden bei einem Tier mit Labmagenverlagerung nach rechts und perforierendem Labmagenulkus. Sie war somit deutlich kürzer als die von SCHUHMACHER et al.

(1991) ermittelten 33,48 Stunden. Am ehesten wäre sie mit der von BOGIN und SOMMER (1976) ermittelten Halbwertszeit für die AST von 7,0 Stunden vergleichbar.

In den Boxplots, welche anhand der Daten erstellt wurden (Abbildungen 3.2.40 und 3.2.41), waren einige Ausreisser, also extrem lange Halbwertszeiten sowohl für CK als auch für AST zu erkennen. Eine sehr lange Halbwertszeit bedeutet, dass nach Verstreichen eines bestimmten Zeitintervalls nur ein sehr geringer Abfall der AST-Aktivität im Serum stattgefunden haben muss. Die Vermutung liegt nahe, dass der Grund dafür eine zusätzliche Freisetzung von AST aus anderen Zellen als Muskelzellen sein könnte, zum Beispiel im Rahmen einer Lebererkrankung.

Im folgenden Schritt wurden deshalb alle Tiere, bei denen eine GLDH-Aktivität im Serum von über 100 IU/l gemessen worden war, von der Auswertung ausgeschlossen. Bei Betrachtung der Halbwertszeiten bei den verbliebenen Tieren wurde zum einen deutlich, dass nur wenige Extremwerte weggefallen waren, und zum anderen, dass dies sowohl bei der AST als auch bei der CK der Fall war. Da sich auch die nun berechneten medianen Halbwertszeiten für CK (36,90 Stunden) und AST (111,40 Stunden) nur geringfügig von denjenigen vor Ausschluss von Tieren mit mittelgradig erhöhten Leberwerten unterschieden, können die teilweise extrem langen Halbwertszeiten der AST nicht allein durch das Vorliegen einer Lebererkrankung mit kontinuierlicher AST-Freisetzung begründet werden.

Viel wahrscheinlicher ist, dass bei zahlreichen Tieren nach dem initialen Muskeltrauma eine länger andauernde Freisetzung der beiden Muskelenzyme stattgefunden hat. Dies könnte zum Beispiel der Fall sein bei Tieren, die nach einer Muskelverletzung zum Festliegen kommen. Wird die betroffene Kuh nicht regelmäßig gewendet, so kann es allein durch das Eigengewicht des Tiers zu Drucknekrosen in den unten liegenden Muskelpaketen mit folgender Freisetzung von CK und AST ins Blut kommen (MCGAVIN und ZACHARY, 2009). Werden nun in gewissen Zeitabständen Serumproben genommen und auf ihre CK- und AST-Aktivität hin untersucht, so ist oft kaum ein Aktivitätsabfall zu erkennen, da gerade aus dem Blut eliminierte Enzyme ständig durch neu freiwerdende Enzyme ersetzt werden. Dies könnte auch die insgesamt sehr langen medianen Halbwertszeiten von CK und AST in dieser Studie erklären.

Insgesamt muss die hier angewandte Methode zur Ermittlung von Halbwertszeiten für die Enzyme CK und AST durch retrospektive Datenauswertung also kritisch betrachtet werden. Ein Vorteil dieser Methode ist natürlich, dass kein tierexperimentelles Modell nötig ist, um Halbwertszeiten zu bestimmen. Die intravenöse Infusion von Enzymextrakten, die von einigen Autoren zur Ermittlung von Halbwertszeiten beschrieben wurde, birgt stets die Gefahr der Entwicklung eines anaphylaktischen Schocks und sollte deshalb wohl überlegt sein.

Andererseits muss aber festgehalten werden, dass es schwierig ist, mit der in dieser Arbeit gewählten Methode allgemeingültige Halbwertszeiten zu ermitteln. Fast alle Kühe, deren Daten ausgewertet wurden, wiesen nämlich neben einer Muskelschädigung im weitesten Sinne (Muskelrupturen, Schnittverletzungen, Myodystrophie, Zitzenverletzungen, Labmagenverlagerung, perforierende Labmagengeschwüre usw.) noch andere Erkrankungen wie Stoffwechselstörungen, Endometritis, Mastitis oder Klauenerkrankungen auf. Es ist durchaus vorstellbar, dass diese weiteren Erkrankungen die Eliminationsgeschwindigkeit der Enzyme aus dem Blut beeinflussen, da auch BRAUN et al. (2008) erwähnen, dass der Abbau in der Leber bei infektiösen Erkrankungen und Immunsuppression reduziert sein kann.

Bei Betrachtung der bei jedem Tier errechneten Halbwertszeiten für CK und AST fiel auf, dass bei zahlreichen Tieren die AST-Aktivität noch anstieg, während die CK-Aktivität schon abfiel. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die AST-Aktivität im Serum infolge eines Muskeltraumas langsamer ansteigt als die CK-Aktivität und der Maximalwert der beiden Enzymaktivitäten im Serum auch nicht zeitgleich erreicht wird. Aus der retrospektiven Auswertung geht hervor, dass das Zeitintervall zwischen zwei Blutprobenentnahmen teilweise 24 Stunden oder länger war. Somit wäre es durchaus möglich, dass in noch deutlich mehr Fällen der Peak der AST-Aktivität erst nach demjenigen der CK-Aktivität erreicht wurde. Diese Fälle könnten allerdings nicht erfasst worden sein, da zum Zeitpunkt der zweiten Blutprobenentnahme die Aktivitäten beider Enzyme bereits wieder abfielen.

Würden dagegen die maximalen Aktivitäten beider Enzyme zeitgleich im Serum vorliegen, so müssten die „Tendenzen“ beider Enzymaktivitäten, also Anstieg oder Abfall, unabhängig vom Zeitintervall in dem die beiden Blutproben genommen wurden immer gleich sein.

Diese Überlegungen werden auch durch die Untersuchungen von KELLER et al. (1971) unterstützt, die feststellten, dass die AST-Aktivität im Serum nach Laparotomie erst am vierten Tag nach der Operation maximal war, während die CK-Aktivität ihren Höhepunkt schon zwei Stunden nach der Operation erreicht hatte (vgl. Abb. 2.3.1). Im Gegensatz dazu lag bei den Verlaufsuntersuchungen nach Kaiserschnitt allerdings die maximale CK- und AST- Aktivität zeitgleich vor (vgl. Abb. 2.1.2).

Zur Klärung dieses Sachverhalts sind also dringend weitere Studien erforderlich, welche den Verlauf der Aktivitäten von CK und AST nach experimentell gesetzten Muskelschäden beim Rind untersuchen.

Ein Grund für einen langsameren Aktivitätsanstieg der AST im Serum im Vergleich zur CK könnte sein, dass die AST intrazellulär zu 30 % im Zytoplasma und zu 70 % in den Mitochondrien vorliegt (THOMAS, 2005), wogegen die CK zum überwiegenden Teil (90 %) im Zytoplasma und nur zu 10 % in den Mitochondrien lokalisiert ist (WYSS et al., 1992). Man könnte sich also vorstellen, dass der überwiegende Teil der Creatinkinaseenzyme und diejenigen AST-Enzyme, welche im Zytoplasma lokalisiert sind, bereits bei einer Schädigung der Membran der Muskelzelle frei werden. Die andere Hälfte der AST-Enzyme würde dagegen erst im Laufe der Nekrose der geschädigten Muskelzelle ins Blut übertreten, nämlich dann, wenn auch die Membran der Mitochondrien porös wird. Ein langsamerer Anstieg der AST-Aktivität im Serum und ein späteres Erreichen des Maximalwerts könnte so erklärt werden.

THOMAS (THOMAS, 2005) beschreibt ein ähnliches Phänomen hinsichtlich der Höhe der AST-Aktivität im Serum bei Lebererkrankungen. Zur der Pathogenese der akuten Virushepatitis B des Menschen wird angenommen, dass das Virus selbst die Parenchymzellen der Leber zunächst nur wenig schädigt. Es kommt lediglich zu einer leichten Schwellung der Leberzellen mit Permeabilitätsstörung der Zellmembran. Folglich gelangt cytoplasmatische AST ins Blutplasma, was als moderater Aktivitätsanstieg im Serum gemessen werden kann. Erst im Verlauf der Erkrankung können zirkulierende virale Antigene eine Aktivierung von T-Lymphozyten bewirken, deren Immunantwort dann gegen Leberzellen gerichtet ist, da sie virale Proteine in der Plasmamembran erkennen. Erst diese stärkere

Schädigung der Parenchymzellen verursacht einen Übertritt der mitochondriellen AST in das Blutplasma.

Zur Überprüfung, ob dieses Phänomen auch in Skelettmuskelzellen auftritt, wären allerdings experimentelle Studien an einzelnen Muskelzellen nötig.

Sollte sich in zukünftigen Studien herausstellen, dass die Maximalaktivität der AST im Serum von Rindern nach einem Muskelschaden zeitlich gesehen erst nach derjenigen der CK erreicht wird, so hätte dies Konsequenzen für die Verwendung des CK/AST-Quotienten im Rahmen der Diagnostik von Muskelerkrankungen. Liegen die Höhepunkte der CK- und der AST-Aktivität im Serum nämlich nicht zeitgleich vor, so entspricht auch das initiale Verhältnis der beiden Enzyme im Serum nicht exakt dem Verhältnis im Muskel. Folglich müsste die Höhe des bei der Rückrechnung auf den Zeitpunkt des Muskeltraumas und auf die dabei zerstörte Muskelmasse auftretenden Fehlers abgeschätzt und miteinberechnet werden.

5. Zusammenfassung

Jurgovsky, Elisabeth (2011): **Diagnostische Bedeutung des Quotienten aus CK- und AST-Aktivität im Serum von Rindern.**

Ziel dieser Arbeit war es, die Bedeutung des CK/AST-Quotienten im Rahmen der Diagnostik von Muskelerkrankungen bei Rindern zu klären. Im Speziellen sollte geprüft werden, ob es möglich ist, mithilfe einer einmaligen Messung der CK- und AST-Aktivität im Blutserum und Kenntnis des Verhältnisses von CK- und AST-Aktivität im Muskel die Zeitspanne zu berechnen, die seit dem Muskeltrauma mindestens verstrichen sein muss. Weiterhin sollte berechnet werden, wie hoch die Aktivität der beiden Enzyme im Serum maximal war und wie viel Muskelmasse bei dem Trauma zerstört wurde.

Zunächst wurden von 60 weiblichen Rindern mit einem Alter von 18 Monaten oder älter nach der Euthanasie Proben aus insgesamt sieben Skelettmuskeln genommen, um den CK- und AST-Gehalt in verschiedenen Muskeln zu bestimmen. Bei den ausgewählten Rindern durfte keine Muskelerkrankung diagnostiziert worden sein. In unterschiedlicher Anzahl wurden beprobt:

Mm. adductores (n = 57), *M. biceps femoris* (n = 60), *M. extensor carpi ulnaris* (n = 9), *M. sternomandibularis* (n = 28), *M. gastrocnemius* (n = 13), *M. semimembranosus* (n = 13), *M. quadriceps femoris* (n = 13).

Die Muskelproben wurden bis zur weiteren Verarbeitung bei -80°C tiefgefroren. Nach dem Auftauen wurden die Muskelproben in einem Mixer zerkleinert, mit physiologischer Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt und mithilfe eines Ultraturrax homogenisiert. Im Anschluss an die Zentrifugation wurden die Aktivitäten von CK und AST im klaren Überstand mithilfe des Roche/Hitachi 912 E Analyzers bei 37°C gemessen. Aus den erhaltenen Werten wurde dann der mediane CK/AST-Quotient in jedem Muskel berechnet.

Der CK/AST-Quotient variierte in den untersuchten Muskeln zum Teil stark. Im Einzelnen war der Quotient in den *Mm. adductores* (m = 59,7) signifikant niedriger als im *M. biceps femoris* (m = 86,1; p = 0,04) und im *M. quadriceps femoris*

($m = 114,6$; $p = 0,03$). Außerdem war der CK/AST-Quotient in den *Mm. adductores* hoch signifikant niedriger ($p < 0,01$) als im *M. semimembranosus* ($m = 137,4$). Der mediane CK/AST-Quotient im *M. extensor carpi ulnaris* betrug 75,7, im *M. sternomandibularis* 74,3 und im *M. gastrocnemius* 88,5.

Die Einteilung der beprobten Rinder in drei Altersgruppen ergab keine statistisch signifikanten Unterschiede weder im CK- noch im AST-Gehalt in den *Mm. adductores* und im *M. biceps femoris* zwischen den einzelnen Gruppen. Der Vergleich des Muskelenzymgehalts verschiedener Rinderrassen zeigte dagegen, dass Tiere der Rasse Braunvieh ($m = 5780$ IU/g, $n = 6$) einen 2,5 mal höheren medianen CK-Gehalt in den *Mm. adductores* aufwiesen als Tiere der Rasse Fleckvieh ($m = 2300$ IU/l, $n = 40$). Dieser Unterschied war statistisch signifikant ($p = 0,03$).

Im zweiten Teil dieser Arbeit wurden retrospektiv die Daten von 164 weiblichen Rindern mit erhöhten CK- und AST-Aktivitäten im Serum ausgewertet mit dem Ziel, die Halbwertszeiten von CK und AST zu ermitteln. Es wurden nur Tiere ausgewählt, welche 18 Monate oder älter waren, keine stark erhöhten Leberwerte hatten und bei denen mindestens zweimal eine Serumprobe untersucht worden war. Die für die Halbwertszeiten der beiden Enzyme ermittelten Werte zeigten eine starke Variation. Der Median der für die CK ermittelten Halbwertszeiten betrug 37,85 Stunden, derjenige der AST 110,81 Stunden. Die kürzeste gefundene Halbwertszeit für die CK war 7,73 Stunden, für die AST war sie 8,65 Stunden.

Bei 60 von den 164 ausgewerteten Tieren stieg die AST-Aktivität im Serum noch an, während die CK-Aktivität bereits abfiel. Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die AST langsamer aus Muskelzellen freigesetzt wird als die CK und dass die beiden Enzyme nicht zeitgleich ihre Maximalaktivität im Serum erreichen.

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass der CK/AST-Quotient in verschiedenen Muskeln unterschiedlich ist. Dies scheint unter anderem daran zu liegen, dass sich Muskeln in ihrem CK-Gehalt unterscheiden. In dieser Studie war vor allem der CK-Gehalt in den *Mm. adductores* im Vergleich zu den anderen untersuchten Muskeln deutlich geringer. Die Berechnung des Zeitpunktes, an dem ein Muskeltrauma eingetreten ist, sowie der dabei zugrundegegangenen Muskelmasse und der initialen Enzymaktivität im Serum mithilfe des CK/AST-Quotienten ist also nur möglich, wenn der geschädigte Muskel bekannt ist.

6. Summary

Jurgovsky, Elisabeth (2011): **Diagnostic significance of the ratio of the activity of CK and AST in the serum of cattle**

The aim of this study was to evaluate the significance of the ratio of Creatinkinase and Aspartate-Aminotransferase concerning the diagnosis of muscle diseases in cattle. Particularly it was tested if it is possible to calculate the period of time that elapsed since the muscle trauma by a single measurement of the activity of CK and AST in blood serum and by knowledge of the ratio of the activity of CK and AST in muscle tissue. Furthermore, we tried to calculate the maximal activity of both enzymes in the serum following muscle insult, and the amount of muscle mass, which was damaged in the course of the trauma.

First of all samples of a total of seven skeletal muscles of 60 female cattle aged 18 months or older were taken after they had been euthanised to determine the concentration of CK and AST in the different muscles. Only cattle which didn't have muscle disease were chosen. The following muscles were sampled:

Mm. adductores (n = 57), *M. biceps femoris* (n = 60), *M. extensor carpi ulnaris* (n = 9), *M. sternomandibularis* (n = 28), *M. gastrocnemius* (n = 13), *M. semimembranosus* (n = 13), *M. quadriceps femoris* (n = 13).

The muscle samples were deep-frozen at -80°C until further treatment. After the defrosted muscle samples had been crushed, 1:10 diluted and homogenized with subsequent centrifugation, the activities of CK and AST were measured in the supernatant with the Roche/Hitachi Analyzer at 37°C. Afterwards, the CK/AST ratio for every muscle was calculated from the obtained values.

The CK/AST ratio differed significantly in some of the investigated muscles. Thus, the ratio in the *adductor* muscles ($m = 59.7$) was significantly lower than in the *biceps femoris* muscle ($m = 86.1$; $p = 0.04$) and in the *quadriceps femoris* muscle ($m = 114.6$; $p = 0.03$). Moreover, the CK/AST ratio in the *adductor* muscles was highly significantly lower ($p < 0.01$) than in the *semimembranosus* muscle

($m = 137.4$). The median CK/AST ratio in the *extensor carpi ulnaris* muscle was 75.7, in the *sternomandibularis* muscle 74.3 and in the *gastrocnemius* muscle 88.5.

The division of the sampled cows in three age groups showed no statistically significant differences between the particular groups neither in the activity of CK nor in the activity of AST in the *adductor* or *biceps femoris* muscles. With regard to the muscle enzyme concentration in different cattle breeds Brown Swiss cows ($m = 5780$ IU/g, $n = 6$) had a 2.5 times higher median concentration of CK in the *adductor* muscles than Simmental cows ($m = 2300$ IU/l, $n = 40$). This difference was statistically significant ($p = 0.03$).

In the second part of this study the data of 164 cows with elevated activities of CK and AST in serum were analysed retrospectively in order to determine the half-lives of CK and AST. Only animals with an age of 18 months or older were chosen, which didn't have severely elevated liver enzymes and from whom at least two blood samples had been analysed. The obtained half-lives for CK and AST showed large variation. The median of the half-lives which had been calculated for CK was 37.85 hours, for AST it was 110.81 hours. The shortest half-life that was found for CK was 7.73 hours and for AST 8.65 hours.

In 60 of 164 evaluated cattle the activity of AST was still increasing whereas the activity of CK was already declining. This could mean that AST is released from muscle cells more slowly than CK and that the enzymes don't reach their maximal activity in serum at the same time.

In summary it can be stated that the CK/AST ratio varies in different bovine muscles. This might be due to the fact that muscles differ in their concentration of CK. In this study especially the activity of CK in the *adductor* muscles was obviously lower than in the other investigated muscles. The calculation of the time of the muscle trauma, the amount of destroyed muscle mass and the initial enzymatic activity in serum by using the CK/AST ratio is therefore only possible if the affected muscle is known.

7. Literaturverzeichnis

Adhihetty PJ, Irrcher I, Joseph AM, Ljubicic V, Hood DA. Plasticity of skeletal muscle mitochondria in response to contractile activity. *Exp. Physiol.* 2003; 88: 99-107.

Anderson PH, Berret S, Patterson DSP. The rate of clearance of four liver derived enzymes from the plasma of young cattle. *Zbl. Vet. med.* 1981; A28: 808-811.

Anderson PH, Berrett S, Patterson DSP. Significance of elevated plasma creatine-phosphokinase activity in muscle disease of cattle. *J. Comp. Path.* 1976; 86(4): 531-538.

Anderson MG. The influence of exercise on serum enzyme levels in the horse. *Equ. Vet. J.* 1975; 7: 160-165.

Baumgartner W. Klinisch-chemische Blutuntersuchung. In: *Klinische Propädeutik der inneren Krankheiten und Hautkrankheiten der Haus- und Heimtiere*. Baumgartner W. ed., 5 edn., Berlin, Parey-Verlag 2002: 310-318.

Baumgartner W, Skalicky M. Working values for laboratory diagnosis in cattle. 1. Enzymes and metabolic products in serum or whole blood. *Zbl. Vet. med.* 1979; Reihe A 26(3): 221-230.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Der Metabolismus besteht aus vielen gekoppelten Reaktionen. In: Biochemie. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L, ed. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, Gustav Fischer 2003a: 409-415.

Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L. Das Michaeli-Menten-Modell erklärt die kinetischen Eigenschaften vieler Enzyme. In: Biochemie. Berg JM, Tymoczko JL, Stryer L, ed. Heidelberg, Berlin: Spektrum Akademischer Verlag, Gustav Fischer 2003b: 222-230.

Bickhardt K. Muskelerkrankungen, pathophysiologische Grundlagen. In: Lehrbuch der Schweinekrankheiten. Waldmann KH, Wendt M, begründet von Plonait H, Bickhardt K, ed. Stuttgart: Parey-Verlag 2004: 239-240.

Blackmore DJ, Elton D. Enzyme activity in the serum of thoroughbred horses in the United Kingdom. Equ. Vet. J. 1975; 7: 34-39.

Bogin E, Sommer H. Enzyme profile of heart and skeletal muscles, liver and kidney of cows and pigs. Zbl. Vet. med. 1976; 23: 394-400.

Bostedt H. Blutserumuntersuchungen bei festliegenden Rindern in der frühpuerperalen Periode. 2. Mitteilung: Untersuchungen über den Serumenzymgehalt festliegender Rinder. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1973; 86: 367-392.

Bostedt H. Enzymaktivitäten im Blutserum von Rindern in der Zeit um die Geburt. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 1974; 87: 365-371.

Braun JP, Lefebvre H, Bezille P, Rico AG, Toutain PL. Creatine-Kinase in cattle - a review. *Revue Méd. Vét.* 1995; 146: 615-622.

Braun JP, Medaille C, Trumel C. Clinical interpretation of enzyme activities and concentrations: A review of the main metabolic factors affecting variation. *Isr. J. Vet. Med.* 2008; 63: 12-18.

Brooke MH, Kaiser KK. Muscle fiber types: how many and what kind? *Arch. Neurol.* 1970; 23: 369-379.

Burke RE. Motor unit properties and selective involvement in movement. *Exerc. Sport Sci. Rev.* 1975; 3: 31-81.

Clark RG, Henderson HV, Hoggard GK, Ellison RS, Young BJ. The ability of biochemical and haematological tests to predict recovery in periparturient recumbent cows. *New Zld. Vet. J.* 1987; 35: 126-133.

Clark RG, Hoggard GK, Moore, M. Muscle enzyme prognostic tests in downer cows. *Surv.* 1984; 11: 3-5.

Cox VS, McGrath C, Jorgensen S. The role of pressure damage in pathogenesis of the downer cow syndrome. *Am. J. Vet. Res.* 1982; 43: 26-31.

Dawson DM, Eppenberger HM, Eppenberger ME. Multiple molecular forms of creatine kinases. *Ann. NY Acad. Sci.* 1968; 151: 616-626.

Dawson DM, Fine IH. Creatine kinase in human tissues. Arch. Neurol. 1967; 16: 175-180.

Dotta U, Robutti B. A study on the serum levels of glutamic-oxaloacetic and glutamic-pyruvic transaminases, of aldolase and creatine-phosphokinase in normal and muscular dystrophic calves. Folia vet. Lat. 1972; 2: 310-325.

Dufey PA, Chambaz A. Sensorische Fleischqualität von sechs Rinderrassen. Agr. For. 2006; 13(11-12): 464-469

Dufour DR. Creatine kinase:aspartate aminotransferase activity ratio as an indicator of the source of an increased creatine kinase activity. Clin. Chem. 1988; 34: 2506-2510.

Eppenberger HM, Eppenberger M, Richterich R, Aepli H. The ontogeny of creatine kinase isoenzymes. Dev. Biol. 1964; 10: 1-16.

Frahm K, Graf F, Kräusslich H. Enzymatic activities in cattle organs. Zbl. Vet. med. 1977; 24: 81-87.

Frahm K, Graf F, Kräusslich H, Osterkorn K. Enzymatic activity in cattle organs. II. Organ analysis in Holstein-Friesian cows. Zbl. Vet. med. 1978; A 25(4): 297-306.

- Frerking H, Serur B, Assmus G. Zur prognostischen Bedeutung einiger Blutparameter bei um den Kalbetermin festliegenden Kühen. Tierärztl. Umschau 1984; 39: 749-756.
- Fürll M. Störungen von Wasserhaushalt, Säure-Basen-Gleichgewicht und Elektrolytstatus/Fluidotherapie. In: Innere Medizin und Chirurgie des Rindes. Dirksen G, Gründer H-D, Stöber M. ed. Berlin, Wien, Parey-Verlag 2002: 253.
- Fürll M. Spezielle Untersuchung beim Wiederkäuer. In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Kraft W, Dürr UM. ed. Stuttgart, New York, Schattauer Verlag 2005. 6: 444-474
- Galitzer SJ, Oehme FW. Creatine-Kinase isoenzymes in bovine tissue. Am. J. Vet. Res. 1985; 46(7): 1427-1429.
- Garcia-Webb P, Bhagat CI, Beilby JP. Plasma Creatine Kinase/Aspartate Aminotransferase ratio in the diagnosis of acute myocardial infarction. Clin. Chem. 1985; 31: 498-499.
- Gelfert C-C, Alpers I, Dallmeyer M, Decker M, Hütling A, Lesch S, Baumgartner W, Staufenbiel R. Factors affecting the success of treatment of recumbent dairy cows suffering from hypocalcaemia. J. Vet. Med. 2007 A; 54(4): 191-198.
- Glitz F. Muskelenzymmuster und Elimination von i.v. applizierten homologen Muskelenzymen beim Pferd. Klinik für Pferde. Tierärztliche Hochschule Hannover. Vet. med. Dissertation, Hannover 1997.

- Gorza L. Identification of a novel type 2 fiber population in mammalian skeletal muscle by combined use of histochemical myosin ATPase and anti-myosin monoclonal antibodies. *J. Histochem. Cytochem.* 1990; 38: 257-265.
- Haas RC, Korenfeld C, Zhang ZF, Perryman B, Roman D, Strauss AW. Isolation and characterization of the gene and cDNA encoding human mitochondrial creatine kinase. *J. Biol. Chem.* 1989; 264: 2890-2897.
- Haas RC, Strauss AW. Separate nuclear genes encode sarcomere-specific and ubiquitous human mitochondrial creatine kinase isoenzymes. *J. Biol. Chem.* 1990; 265: 6921-6927.
- Hamdan A, Zafrir N, Sagie A, Kornowski R. Modalities to assess myocardial viability in the modern cardiology era. *Coron. Artery Dis.* 2006; 17: 567-576.
- Heffron JJ, Bomzon L, Pattinson RA. Observations on plasma creatine phosphokinase activity in dogs. *Vet. Rec.* 1976; 98: 338-340.
- Hoy L, Vaske B. Die medizinische Dissertation; Statistische Methoden; Auswerten mit SPSS 14 und 15. Medizinische Hochschule Hannover, Institut für Biometrie, Hannover 2007.
- Keller P. Serumenzyme beim Rind: Organanalysen und Normalwerte. *Schw. Arch. Tierhk.* 1971; 113: 616-626.

Keller P, Gerber H, Martig J. Zum Verhalten von Serumenzymen bei Muskelschäden des Rindes. Schw. Arch. Tierhk. 1971; 113 (11): 627-636.

Keller P. Lactate-Dehydrogenase and its isoenzymes, Creatine-Phosphokinase and Aldolase in different bovine muscles. J. Comp. Path. 1974; 84(4): 467-475.

Kirchofer KS, Calkins CB, Gwartney BL. Fiber-type composition of muscles of the beef chuck and round. J. Anim. Sci. 2002; 80: 2872-2878.

Klein SC, Haas RC, Perryman MB, Billadello JJ, Strauss AW. Regulatory element analysis and structural characterization of the human sarcomeric mitochondrial creatine kinase gene. J. Biol. Chem. 1991; 266: 18058-18065.

Kolb E. Physiologie der Muskulatur und des Knochengewebes. In: Lehrbuch der Physiologie der Haustiere, 5 edn. Kolb E, ed. Stuttgart, New York: Gustav Fischer Verlag 1989: 804-839.

Kraft W. Skelettmuskulatur, Knochen, Kalzium-, Phosphor-, Magnesiumstoffwechsel. In: Klinische Labordiagnostik in der Tiermedizin. Kraft W, Dürr UM., ed. New York: Schattauer-Verlag, Stuttgart 1999: 251-258.

Lefebvre HP, Laroute V, Braun JP, Lassourd V, Toutain PL. Non-invasive and quantitative evaluation of post-injection muscle damage by pharmacokinetic analysis of creatine kinase release. Vet. Res. 1996; 27(4-5): 343-361.

Lefebvre HP, Toutain PL. Pharmacokinetic variables and bioavailability from muscle of creatine kinase in cattle. *Am. J. Vet. Res.* 1994; 55(4): 487-493.

Liebich H-G, Maierl J, König HE. Muskeln der Vorder- oder Schultergliedmaße. In: *Anatomie der Haussäugetiere*, 3 edn. König HE, Liebich H-G, ed. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag 2005a: 177-210.

Liebich H-G, Maierl J, König HE. Muskeln der Beckengliedmaße. In: *Anatomie der Haussäugetiere*, 3 edn. König HE, Liebich H-G, ed. Stuttgart, New York: Schattauer Verlag 2005b: 244-274.

Liebich H-G, Maierl J, König HE. Schultergürtelmuskulatur. In: *Anatomie der Haussäugetiere*. König HE, Liebich H-G, ed. Stuttgart: Schattauer-Verlag 2005c: 178-186.

McGavin D, Zachary J. Skelettmuskulatur. In: *Pathologie der Haustiere: Allgemeine, spezielle und funktionelle Veterinärpathologie*. McGavin D, Zachary J, ed. Elsevier, Urban und Fischer Verlag 2009: 896-923

Moreno-Sanchez N, Diaz C, Carabano MJ, Rueda J, Rivero JL. A comprehensive characterisation of the fibre composition and properties of a limb (flexor digitorum superficialis, membri thoraci) and a trunk (psoas major) muscle in cattle. *BMC Cell Biol.* 2008; 9: 67.

Peek SF, Apple FS, Murakami MA, Crump PM, Semrad SD. Cardiac isoenzymes in healthy Holstein calves and calves with experimentally induced endotoxemia. *Can. J. Vet. Res.* 2008; 72(4): 356-361

Pöhler N. Referenzbereiche für die klinische Chemie und das Enzym Transketolase bei fünf bis vierzehn Tage alten Fleckviehkälbern. Vet. med. Dissertation, München 2004.

Röttker B. Zur prognostischen Bedeutung der Erstuntersuchung festliegender Kühe. Tierärztliche Hochschule Hannover. Vet. med. Dissertation, Hannover 1983.

Rojo M, Hovius R, Demel RA, Nicolay K, Wallimann T. Mitochondrial creatine kinase mediates contact formation between mitochondrial membranes. J. Biol. Chem. 1991; 266: 20290-20295.

Rosalki SB. Creatine phosphokinase isoenzymes. Nature 1965; 207(995): 414.

Rossow N, Bolduan G. Ketose der Milchkuh. In: Stoffwechselstörungen bei Haustieren. Rossow N, Bolduan G, ed. Jena, Stuttgart, Gustav Fischer Verlag 1994: 59-64.

Rubenstein NA, Kelly AM. The diversity of muscle fiber types and its origin during development. In: Myology: Basic and Clinical. Engel AG, Franzini-Armstrong, C, ed. New York: McGraw-Hill 2004: 87-103.

Scheunert A, Trautmann A. Die quergestreifte Skelettmuskulatur. In: Lehrbuch der Veterinär-Physiologie, 7 edn. Wittke G, ed. Berlin und Hamburg: Verlag Paul Parey 1987: 656-674.

Schmidt E, Schmidt FW, Chemnitz G, Kubale R, Lobers J. The Szasz-ratio (CK/GOT) as example for the diagnostic significance of enzyme ratios in serum. *Klin. Wochenschr.* 1980; 58: 709-718.

Scholz H, Stöber M. Enzootische Myodystrophie des präruminanten Kalbes. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. Dirksen G, Gründer H-D, Stöber M, ed. Berlin, Wien: Parey-Verlag 2002: 1000-1004.

Schuhmacher M, Klee W, Bickhardt K. Eliminationskinetiken einiger klinisch relevanter Enzyme im Blutplasma von Rindern nach intravenöser Bolus-Infusion homologer Präparate. *Dtsch. tierärztl. Wschr.* 1991; 99: 225-227.

Shpigel NY, Avidar Y, Bogin E. Value of measurements of the serum activities of creatine phosphokinase, aspartate aminotransferase and lactate dehydrogenase for predicting whether recumbent dairy cows will recover. *Vet. Rec.* 2003; 152: 773-776

Stein W. Creatinkinase (Gesamtaktivität)/ Creatinkinase-Isoenzyme und -Varianten. In: *Labor und Diagnose*, 6 edn. Thomas L, ed. Frankfurt/Main: TH-Books 2005: 88-96.

Steiner A. Krankheiten im Bereich von Ober- und Unterschenkel. In: *Innere Medizin und Chirurgie des Rindes*. Dirksen G, Gründer H-D, Stöber M, ed. Berlin, Wien: Parey-Verlag 2002: 801-825.

- Swain DG, Gama RM, Nightingale PG. Is serum creatine-kinase - aspartate-aminotransferase ratio useful for diagnosing acute myocardial-infarction in elderly patients. J. Clin. Path. 1993; 46: 264-266.
- Szasz G, Busch EW. Organspezifisierung einer erhöhten Kreatinkinase-Aktivität im Serum. In: Fortschritte der klinischen Chemie; Enzyme und Hormone. Kaiser E, ed. Verlag der Wiener Medizinischen Akademie 1972: 163-167. Zitiert nach SCHMIDT et al. (1980).
- Tarrant PV, McVeigh JM. Physiological responses during percutaneous needle biopsy of bovine skeletal muscle (proceedings). Biochem. Soc. Trans. 1979; 7(3): 537-539
- Thomas L. Alanin-Aminotransferase (ALT), Aspartat-Aminotransferase (AST). In: Labor und Diagnose, 6 edn. Thomas L, ed. Frankfurt/Main: TH-Books 2005: 62-81.
- Valberg SJ. Skeletal Muscle Funktion. In: Clinical Biochemistry of Domestic Animals, 6 edn. Kaneko JJ, Harvey J W, Bruss ML, ed. Elsevier, Academic Press 2008: 459-484.
- Volfinger L, Lassourd V, Michaux JM, Braun JP, Toutain PL. Kinetic evaluation of muscle damage during exercise by calculation of amount of creatine kinase released. Am. J. Physiol. 1994; 266: R434-441.

Wallimann T, Schlosser T, Eppenberger HM. Function of M-line-bound creatine kinase as intramyofibrillar ATP regenerator at the receiving end of the phosphorylcreatine shuttle in muscle. J. Biol. Chem. 1984; 259: 5238-5246.

Weiß C. Die Normalverteilung. In: Basiswissen Medizinische Statistik. Weiß C, ed. Berlin, Heidelberg, New York, Springer Verlag 1999; 156-168

Weiss K-H. Serumentzymbestimmungen zur Diagnostik bestimmter Kälberkrankheiten und ihre Anwendbarkeit in der tierärztlichen Praxis. Vet. med. Dissertation, München 1976.

Wyss M, Kaddurah-Daouk R. Creatine and Creatinine Metabolism. Phys. Rev. 2000; 80: 1108-1213.

Wyss M, Smeitink J, Wevers RA, Wallimann T. Mitochondrial creatine kinase: a key enzyme of aerobic energy metabolism. Biochim. Biophys. Acta 1992; 1102: 119-166.

8. Anhang

Tab. 8.1: CK-Aktivität [IU/g] in den untersuchten Muskeln

A = Mm. adductores, B = M. biceps femoris, EX = M. extensor carpi ulnaris,
S = M. sternomandibularis, G = M. gastrocnemius, M = M. semimembranosus,
Q = M. quadriceps femoris

Tiernr.	A	B	EX	S	G	M	Q
1089	5518,6	3303,8	3436,0				
1090	6099,4	6221,6	3721,9				
1067	99,3	3542,6	2697,1				
1091	1064,2	653,9	5366,2				
1131	2421,7	5178,8	2913,9				
1158	5278,8	4514,5	5709,0				
1194	4734,4	4663,2	2647,2				
1221	3373,9	6381,7	5226,2				
1235	2435,3	3816,8	3846,6				
1279	77,8	2244,2					
1290	38,2	283,4					
1416	127,6	6047,1		4160,7			
1292	112,6	1859,3					
1213	2539,6	3623,0					
1280	286,4	1064,3					
1167	2010,0	1457,3					
1272	4049,1	5301,4					
1347	4970,7	6840,0					
1282	164,1	4392,5					
1341	2364,8	3888,3					
1326	260,3	589,9		3310,5			
1368	2997,9	6707,4		5613,9			
1370	6038,0	8166,6		4807,9			
1380	114,1	6810,4		5307,0			
1389	1210,5	5556,5					
1394	5167,7	5055,6		3005,3			
1397	5929,7	5767,6		4203,6			
1400	668,5	6302,4					
1409	137,6	4047,1		5861,2			
1413	5381,8	6649,1					

1437	3965,3	5565,1		4588,4			
1465	850,4	359,1		1317,0			
1466	3432,5	4782,9		4716,7			
1513	2074,5	2958,3		4184,4			
1490		2958,8		493,9			
1526	556,0	1424,6		2130,1			
1514	1005,5	2848,7		3629,4			
1533	6309,4	7110,4					
1548	5168,7	5554,6		4698,4			
1638	2608,3	4069,3		3672,4	3746,1	3819,3	3912,7
1644	6326,5	6585,8			3893,4	7522,4	3488,4
1705		6312,4			5274,2	5826,0	5920,5
1711	267,3	6549,6			5978,7	7693,8	6647,6
1543	5528,5	7792,8			7317,4	7464,1	6503,4
1650	5613,9	8410,8			3991,9	7116,4	6280,2
1726	5558,7	6674,2		4797,9	4900,4	6510,4	3642,1
1616	2866,3	5222,7		3681,5			
1542	4992,4	6982,1		4904,6	5964,1	6676,1	6321,6
1626	3694,6	4196,6		4987,4	4804,6	5049,0	4382,4
1686	4003,9	5996,8			3500,4	6048,1	4433,1
1607	1308,5	7488,3		5342,6			
1611	3675,3	3699,4		3397,9			
0024		4457,2			4528,5	2752,7	4422,0
1584	110,7	2560,7		4898,4			
1550	88,2	3946,6		3143,6			
1576	1262,3	6603,4					
1559	502,5	4556,7		3649,2			
0067	7555,6	8409,8		5301,4	4776,8	6453,1	7452,1
1586	3976,8	5270,2		5006,9			
0042	313,3	7899,3			4486,3	7296,3	5861,2

Tab. 8.2: AST-Aktivität [IU/g] in den untersuchten Muskeln

A = Mm. adductores, B = M. biceps femoris, EX = M. extensor carpi ulnaris,
 S = M. sternomandibularis, G = M. gastrocnemius, M = M. semimembranosus,
 Q = M. quadriceps femoris

Tiernr.	A	B	EX	S	G	M	Q
1089	43,7	53,7	146,6				
1090	69,9	111,6	66,2				
1067	26,1	121,4	35,3				
1091	41,2	98,4	64,5				
1131	17,7	25,2	25,6				
1158	78,7	68,2	75,5				
1194	23,5	33,6	43,6				
1221	22,4	35,8	34,1				
1235	65,4	99,2	56,2				
1279	65,8	131,2					
1290	10,7	44,8					
1416	30,6	36,2		41,2			
1292	35,4	55,2					
1213	22,7	24,2					
1280	10,4	38,9					
1167	69,4	58,5					
1272	44,1	37,7					
1347	39,2	86,8					
1282	36,7	143,6					
1341	26,3	41,6					
1326	13,8	60,4		50,0			
1368	21,9	33,4		28,6			
1370	41,5	56,0		82,2			
1380	18,4	69,5		66,4			
1389	21,1	34,2					
1394	63,4	67,2		73,7			
1397	35,9	41,5		36,3			
1400	76,6	42,2					
1409	58,5	80,6		50,6			
1413	45,1	63,2					
1437	39,9	68,4		61,8			
1465	57,3	97,5		40,1			
1466	71,4	95,7		106,6			
1513	45,1	47,2		49,5			

1490		40,0		36,8			
1526	32,1	62,5		33,4			
1514	28,5	29,9		46,2			
1533	55,0	72,0					
1548	65,7	115,9		76,9			
1638	53,6	61,6		66,8	55,1	52,7	33,5
1644	95,7	84,7			60,8	99,6	48,6
1705		39,4			30,5	40,6	36,1
1711	56,8	49,5			51,1	51,5	57,3
1543	64,9	40,1			82,7	37,1	81,2
1650	69,0	97,7			74,5	83,7	103,1
1726	70,4	77,6		64,5	64,7	74,5	48,6
1616	21,1	39,8		35,2			
1542	69,5	84,4		73,0	79,0	42,6	68,4
1626	42,3	27,0		44,7	28,7	49,5	24,3
1686	56,2	55,6			37,2	37,1	38,7
1607	23,5	45,6		31,4			
1611	53,9	54,6		53,4			
0024		16,9			20,7	20,0	14,9
1584	16,9	34,7		31,6			
1550	13,2	31,1		21,1			
1576	22,8	46,8					
1559	40,7	24,0		32,2			
0067	61,3	96,5		79,8	71,5	63,8	67,4
1586	66,6	81,5		82,2			
0042	34,5	46,9			33,9	23,0	31,3

Tab. 8.3: CK/AST-Quotient in den untersuchten Muskeln

A = Mm. adductores, B = M. biceps femoris, EX = M. extensor carpi ulnaris,
 S = M. sternomandibularis, G = M. gastrocnemius, M = M. semimembranosus,
 Q = M. quadriceps femoris

Tiernr.	A	B	EX	S	G	M	Q
1089	126,4	61,5	23,4				
1090	87,2	55,7	56,2				
1067	3,8	29,2	76,5				
1091	25,9	6,6	83,2				
1131	137,2	205,9	113,7				
1158	67,0	66,2	75,7				
1194	201,3	138,8	60,7				
1221	150,3	178,4	153,4				
1235	37,2	38,5	68,5				
1279	1,2	17,1					
1290	3,6	6,3					
1416	4,2	167,1		101,0			
1292	3,2	33,7					
1213	112,0	149,6					
1280	27,5	27,3					
1167	29,0	24,9					
1272	91,8	140,6					
1347	127,0	78,8					
1282	4,5	30,6					
1341	90,0	93,4					
1326	18,8	9,8		66,2			
1368	136,8	200,8		196,2			
1370	145,4	145,9		58,5			
1380	6,2	98,1		80,0			
1389	57,5	162,4					
1394	81,6	75,3		40,8			
1397	165,3	139,1		115,9			
1400	8,7	149,3					
1409	2,4	50,2		115,8			
1413	119,4	105,2					
1437	99,4	81,4		74,3			
1465	14,8	3,7		32,9			
1466	48,1	50,0		44,2			

1513	46,0	62,7		84,6			
1490		74,0		13,4			
1526	17,3	22,8		63,8			
1514	35,2	95,3		78,5			
1533	114,8	98,7					
1548	78,7	47,9		61,1			
1638	48,6	66,1		55,0	68,0	72,5	116,9
1644	66,1	77,8			64,0	75,5	71,7
1705		160,1			172,9	143,6	164,0
1711	4,7	132,4			116,9	149,4	116,0
1543	85,1	194,6			88,5	201,4	80,1
1650	81,4	86,1			53,6	85,1	60,9
1726	79,0	86,1		74,3	75,8	87,4	74,9
1616	136,1	131,3		104,6			
1542	71,8	82,7		67,2	75,5	156,6	92,4
1626	87,4	155,6		111,7	167,3	101,9	180,4
1686	71,2	107,9			94,0	163,2	114,6
1607	55,6	164,4		170,1			
1611	68,2	67,8		63,6			
0024		263,8			218,5	137,4	297,0
1584	6,6	73,7		155,1			
1550	6,7	126,9		149,1			
1576	55,4	141,2					
1559	12,3	189,7		113,3			
0067	123,3	87,1		66,4	66,9	101,2	110,6
1586	59,7	64,7		60,9			
0042	9,1	168,3			132,5	317,3	187,2

Tab. 8.4: CK- und AST-Aktivitäten [IU/g] in den Mm. adductores in verschiedenen Altersgruppen

a) CK-Aktivität

b) AST-Aktivität

< 2,5 Jahre	2,6 - 6 Jahre	> 6 Jahre	< 2,5 Jahre	2,6 - 6 Jahre	> 6 Jahre
1064,2	5518,6	2421,7	41,2	43,7	17,7
3373,9	6099,4	4734,4	22,4	69,9	23,5
114,1	99,3	286,4	18,4	26,1	10,4
137,6	5278,8	2364,8	58,5	78,7	26,3
6309,4	2435,3	1210,5	55,0	65,4	21,1
6326,5	77,8	5929,7	95,7	65,8	35,9
5613,9	38,2	2074,5	69,0	10,7	45,1
313,3	127,6	1005,5	34,5	30,6	28,5
	112,6	5168,7		35,4	65,7
	2539,6	2608,3		22,7	53,6
	2010,0	267,3		69,4	56,8
	4049,1	5528,5		44,1	64,9
	4970,7	3675,3		39,2	53,9
	164,1			36,7	
	260,3			13,8	
	2997,9			21,9	
	6038,0			41,5	
	5167,7			63,4	
	668,5			76,6	
	5381,8			45,1	
	3965,3			39,9	
	850,4			57,3	
	3432,5			71,4	
	556,0			32,1	
	5558,7			70,4	
	2866,3			21,1	
	4992,4			69,5	
	3694,6			42,3	
	4003,9			56,2	
	1308,5			23,5	
	110,7			16,9	
	88,2			13,2	
	1262,3			22,8	
	502,5			40,7	

	7555,6			61,3	
	3976,8			66,6	

Tab. 8.5: CK- und AST-Aktivität [IU/g] im M. biceps femoris in verschiedenen Altersgruppen

a) CK-Aktivität

b) AST-Aktivität

< 2,5 Jahre	2,6 - 6 Jahre	> 6 Jahre	< 2,5 Jahre	2,6 - 6 Jahre	> 6 Jahre
653,9	6116,6	5178,8	98,4	53,7	25,2
6381,7	6221,6	4663,2	35,8	111,6	33,6
6810,4	3542,6	1064,3	69,5	121,4	38,9
4047,1	4514,5	3888,3	80,6	68,2	41,6
7110,4	3816,8	5556,5	72,0	99,2	34,2
6585,8	2244,2	5767,6	84,7	131,2	41,5
6312,4	283,4	2958,3	39,4	44,8	47,2
8410,8	6047,1	2958,8	97,7	36,2	40,0
7899,3	1859,3	2848,7	46,9	55,2	29,9
	3623,0	5554,6		24,2	115,9
	1457,3	4069,3		58,5	61,6
	5301,4	6549,6		37,7	49,5
	6840,0	7792,8		86,8	40,1
	4392,5	3699,4		143,6	54,6
	589,9			60,4	
	6707,4			33,4	
	8166,6			56,0	
	5055,6			67,2	
	6302,4			42,2	
	6649,1			63,2	
	5565,1			68,4	
	359,1			97,5	
	4782,9			95,7	
	1424,6			62,5	
	6674,2			77,6	
	5222,7			39,8	
	6982,1			84,4	
	4196,6			27,0	
	5996,8			55,6	
	7488,3			45,6	
	4457,2			16,9	
	2560,7			34,7	
	3946,6			31,1	
	6603,4			46,8	

	4556,7			24,0	
	8409,8			96,5	
	5270,2			81,5	

Tab. 8.6: CK- und AST-Aktivität [IU/g] in den Mm. adductores bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh, SB = Schwarzbunt, BV = Braunvieh

a) CK-Aktivität

b) AST-Aktivität

FV	SB	BV	FV	SB	BV
5518,6	1064,2	6099,4	43,7	41,2	69,9
99,3	2435,3	6038,0	26,1	65,4	41,5
2421,7	112,6	5381,8	17,7	35,4	45,1
5278,8	2539,6	556,0	78,7	22,7	32,1
4734,4	2010,0	6326,5	23,5	69,4	95,7
3373,9	4049,1	5528,5	22,4	44,1	64,9
2244,2	4970,7		65,8	39,2	
38,2	137,6		10,7	58,5	
127,6	5613,9		30,6	69,0	
286,4	4992,4		10,4	69,5	
164,1			36,7		
2364,8			26,3		
260,3			13,8		
2997,9			21,9		
114,1			18,4		
1210,5			21,1		
5167,7			63,4		
5929,7			35,9		
668,5			76,6		
3965,3			39,9		
850,4			57,3		
2074,5			45,1		
1005,5			28,5		
6309,4			55,0		
5168,7			65,7		
2608,3			53,6		
267,3			56,8		
5558,7			70,4		
2866,3			21,1		
3694,6			42,3		
4003,9			56,2		
1308,5			23,5		
3675,3			53,9		
110,7			16,9		

88,2			13,2		
1262,3			22,8		
502,5			40,7		
7555,6			61,3		
3976,8			66,6		
313,3			34,5		

Tab. 8.7: CK- und AST-Aktivität [IU/g] im M. biceps femoris bei verschiedenen Rinderrassen

FV = Fleckvieh, SB = Schwarzbunt, BV = Braunvieh

a) CK- Aktivität

b) AST-Aktivität

FV	SB	BV	FV	SB	BV
6116,6	653,9	6221,6	53,7	98,4	111,6
3542,6	3816,8	8166,6	121,4	99,2	56,0
5178,8	1859,3	6649,1	25,2	55,2	63,2
4514,5	3623,0	1424,6	68,2	24,2	62,5
4663,2	1457,3	6585,8	33,6	58,5	84,7
6381,7	5301,4	7792,8	35,8	37,7	40,1
2244,2	6840,0		131,2	86,8	
283,4	4047,1		44,8	80,6	
6047,1	8410,8		36,2	97,7	
1064,3	6982,1		38,9	84,4	
4392,5			143,6		
3888,3			41,6		
589,9			60,4		
6707,4			33,4		
6810,4			69,5		
5556,5			34,2		
5767,6			67,2		
6302,4			41,5		
5565,1			42,2		
359,1			68,4		
2958,3			97,5		
2958,8			47,2		
2848,7			40,0		
7110,4			29,9		
5554,6			72,0		
4069,3			115,9		
6312,4			61,6		
6549,6			39,4		
6674,2			49,5		
5222,7			77,6		
4196,6			39,8		
5996,8			27,0		
7488,3			55,6		
3699,4			45,6		

4457,2			54,6		
2560,7			16,9		
3946,6			34,7		
6603,4			31,1		
4556,7			46,8		
8409,8			24,0		
5270,2			96,5		
7899,3			81,5		

Tab. 8.8: Für CK ermittelte Halbwertszeiten [h]

19,69	22,46	70,78	26,61	319,45	29,40	38,04
29,89	18,56	135,53	36,90	42,01	27,99	55,19
28,40	39,69	37,69	689,98	22,76	36,27	110,22
25,68	15,36	57,72	21,39	49,21	113,18	228,24
26,72	20,49	36,93	8,82	24,53	15,81	53,41
65,63	2203,93	46,99	7,73	27,42	119,78	46,17
90,36	20,26	11,91	30,50	15,40	114,33	56,64
32,29	13,47	33,03	55,15	30,95	35,36	85,21
27,84	47,82	15,34	166,31	25,59	42,10	16,41
58,11	31,56	40,37	10,94	17,39	63,46	20,15
18,15	110,74	14,50	53,44	41,81	31,79	87,12
10,05	103,22	25,58	24,37	19,30	34,46	81,79
94,79	53,66	17,17	42,12	85,32	47,29	85,07
37,10	150,62	69,24	44,44	21,59	90,81	41,20
12,92	23,67	49,39	37,98	36,35	71,84	23,29
42,46	14,67	70,12	23,18	27,29	33,39	74,55
33,57	32,33	927,41	21,47	37,72	249,51	39,54
31,73	112,80	127,14	43,58	20,18	40,83	211,33
11,30	10,15	101,66	39,62	70,03	42,86	51,52
25,45	77,89	212,56	26,94	46,29	223,51	57,64
17,04	21,48	31,36	25,17	22,02	21,38	29,77
46,34	96,41	54,50	16,58	12,80	174,48	46,91
19,80	97,79	19,28	40,87	95,27	29,09	32,29
107,90	48,42	527,90				

Tab. 8.9: Für AST ermittelte Halbwertszeiten [h]

89,33	62,89	49,46	124,44	36,62	252,98
83,85	56,85	1598,78	76,22	65,74	164,31
82,97	92,43	99,12	111,36	259,14	351,44
166,97	245,39	170,10	175,66	131,59	187,75
64,14	80,30	48,56	240,73	48,27	316,75
310,94	68,58	64,78	251,39	51,55	52,01
149,87	82,73	48,38	136,82	41,73	164,27
108,03	50,25	583,61	50,16	130,33	175,45
48,58	599,77	1105,85	90,40	70,25	131,23
73,31	864,73	103,57	116,46	328,90	119,94
48,12	74,31	130,86	355,24	528,65	90,40
92,27	106,78	49,83	110,81	76,01	272,17
53,67	32,50	24,64	173,86	93,08	218,48
32,01	145,24	689,98	180,15	76,24	75,55
442,37	788,57	56,13	147,33	68,13	122,20
96,68	8,65	129,12	43,77	159,90	584,53
64,75	45,46	93,00	53,60	60,43	1085,19
76,07	104,10	85,94	128,40	270,80	58,12
363,68	537,37	168,86	125,73	1609,81	140,47
233,24	49,29	601,66	127,33	459,58	73,89
39,76	173,87	84,46	79,88	42,68	183,13
114,20	228,51	62,08	94,37	185,87	248,37
1680,11					

9. Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Prof. Dr. W. Klee für die Überlassung des Dissertationsthemas. Ich möchte ihm herzlich für die stets freundliche Betreuung und die Unterstützung bei der Durchführung dieser Arbeit danken und ganz besonders für die lehrreiche und interessante Zeit an der Klinik für Wiederkäuer.

Vielen herzlichen Dank auch an Frau Dr. B. Sperner und die Mitarbeiterinnen des Instituts für Hygiene und Technologie der Lebensmittel tierischen Ursprungs in Oberschleißheim für die bereitwillige Erlaubnis zur Benutzung ihrer Labore und Laborgeräte und für das Interesse an meiner Arbeit.

Mein Dank gilt außerdem Frau PD Dr. Dr. A. Hafner-Marx und den Mitarbeitern der Pathologie des Landesamts für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit in Oberschleißheim für die Erlaubnis zur Muskelprobenentnahme bei den zur Sektion überwiesenen Kühen und für die freundliche Unterstützung bei der Durchführung.

Weiterhin möchte ich Frau I. Hartmann, Frau C. Beyer und Frau M. Altmann aus dem Labor der Klinik für Wiederkäuer für die tolle Zusammenarbeit bei der Untersuchung der Muskelsaftproben und für ihr stets offenes Ohr für die „Probleme“ des Doktorandenalltags danken.

Mein Dank gilt ebenso Frau C. Sauter-Louis für die Hilfe bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse dieser Arbeit.

Ganz besonders möchte ich mich bei Hans bedanken für die tatkräftige Unterstützung beim „Muskeln rausschneiden“, für die manchmal nötigen Aufmunterungen und für das Gefühl „im gleichen Boot“ zu sitzen.

Mein großer Dank gilt meinen Eltern für ihre fortwährende und bedingungslose Unterstützung und auch meinem Bruder Johannes dafür, dass er bei regelmäßig auftretenden Kommunikationsproblemen zwischen mir und meinem Computer stets geduldig zur Stelle war.

Nicht zuletzt möchte ich mich bei Volker bedanken für die zahllosen Gespräche über festliegende Kühe und ganz besonders für die Leidenschaft, mit der er unseren Beruf ausübt und die mich immer wieder darin bestärkt, wie wundervoll dieser ist.